FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1928

THÈSE

N° 225

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Julien MARIE

Né le 3 mai 1899 à Pont-Audemer (Eure).

Ancien interne des Hôpitaux de Paris

RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES ET IMMUNOLOGIQUES SUR

LA COQUELUCHE

Applications pratiques au diagnostic et à la prophylaxie

Président : M. LÉON-BERNARD, *professeur*

PARIS

IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

JOUVE & Cie, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1928

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1928 — THÈSE — N° _

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Julien MARIE
Né le 3 mai 1899 à Pont-Audemer (Eure).
Ancien interne des Hôpitaux de Paris

RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES ET IMMUNOLOGIQUES SUR

LA COQUELUCHE

Applications pratiques au diagnostic et à la prophylaxie

Président : M. LÉON-BERNARD, *professeur*.

PARIS
IMPRIMERIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
JOUVE & Cie, ÉDITEURS
15, RUE RACINE, 15

1928

LE DOYEN. . . M ROGER.

I. — PROFESSEURS

	MM.
Hydrologie, thérapeutique et climatologie	Maurice VILLARET.
Anatomie	ROUVIÈRE.
Anatomie médico-chirurgicale	CUNÉO.
Physiologie	ROGER.
Physique médicale	STROHL
Chimie organique et chimie générale	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	Marcel LABBÉ.
Pathologie médicale	SICARD.
Pathologie chirurgicale	LECÈNE.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène	N...
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MÉNÉTRIER.
Pathologie expérimentale et comparée	RATHERY.
Clinique médicale	CARNOT. BEZANÇON. ACHARD. WIDAL.
Hygiène et clinique de la première enfance	MARFAN.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JEANSELME.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
Clinique chirurgicale	DELBET. HARTMANN LEJARS. GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE. BRINDEAU. JEANNIN.
Clinique gynécologique	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale	DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Professeur sans chaire	BRANCA.
Clinique de la tuberculose	L. BERNARD.

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	
ALAJOUANINE.	Neurologie et psychiatrie.
ABRAMI . . .	Pathologie medicale.
AUBERTIN. .	Pathologie médicale.
BASSET . . .	Pathologie chirurgicale.
BAUDOUIN. .	Pathologie médicale
BINET	Physiologie.
BLANCHETIÈRE	Chimie biologique.
BROCQ. . . .	Pathologie chirurgicale.
BRULÉ. , . .	Pathologie médicale.
CADENAT . .	Pathologie chirurgicale.
CHABROL . .	Pathologie médicale.
CHIRAY . . .	Pathologie médicale.
CLERC. . . .	Pathologie médicale.
DEBRÉ	Hygiène.
DOGNON. . .	Physique.
DONZELOT . .	Pathologie médicale.
DUVOIR . . .	Médecine légale.
ÉCALLE . . .	Obstétrique.
FIESSINGER .	Pathologie médicale.
GARNIER . .	Pathologie expérimentl[e]
GATELLIER .	Pathologie chirurgicale.
HARVIER. . .	Pathologie médicale.
HEITZ-BOYER	Urologie.
HOVELACQUE .	Anatomie.

MM.	
HUTINEL. . .	Pathologie médicale.
JOYEUX . . .	Parasitologie.
LABBÉ (Henri)	Chimie biologique.
LARDENNOIS	Pathologie chirurgicale.
LEMAITRE. .	Oto-rhino-laryngologie.
LEROUX. . .	Anatomie pathologique
LÉVY-SOLAL.	Obstétrique.
LHERMITTE .	Pathologie mentale.
LIAN.	Pathologie médicale.
MATHIEU. . .	Pathologie chirurgicale
METZGER . .	Obstétrique.
MONDOR. . .	Pathologie chirurgicale.
MOURE. . . .	Pathologie chirurgicale.
MULON. . . .	Histologie.
PHILIBERT. .	Bactériologie.
QUÉNU. . . .	Pathologie chirurgicale
RICHET Fils. .	Physiologie.
SÉZARY . . .	Dermatologie et syphiligraphie.
VALLERY-RADOT (Pasteur) . .	Pathologie médicale.
VAUDESCAL.	Obstétrique
VELTER. . . .	Ophtalmologie
VERNE. . . .	Histologie.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

POUR LE SERVICE DES EXAMENS

MM.	
BUSQUET.	Pharmacologie.
GUÉNIOT . . .	Obstétrique.
LEQUEUX	Obstétrique.
NEVEU-LEMAIRE.	Parasitologie.

MM.	
RETTERER. .	Histologie.
TANON. . . .	Pathologie médicale
ZIMMERN	Physique.

IV.— AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE

A TITRE PERMANENT

MM.	
ALGLAVE . .	Clinique chirurgicale.
AUVRAY. . .	Clinique chirurgicale.
CHEVASSU. .	Clinique chirurgicale.
GOUGEROT. .	Clinique médicale.
LAIGNEL-LAVASTINE .	Clinique médicale.
LE LORIER. .	Clinique obstétricale.

MM.	
LEREBOULLET.	Clinique médicale infantile
LERI. . . .	Clinique médicale.
MOCQUOT . .	Clinique chirurgicale
PROUST . . .	Clinique chirurgicale.
SCHWARTZ	Clinique chirurgicale

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, agrégé. . . .	Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail les mutilés de guerre et les infirmes adultes
FREY.	Stomatologie.
CHAILLEY-BERT.	Education physique.
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.

Par délibération en date du 9 décembre 1795, l'Ecole a arrêté que les opinions, émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs a teurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA FEMME

A MES PARENTS

A MON ONCLE ET A MA TANTE

Pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis pour moi pendant de longues années.

AUX MIENS

A MES AMIS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR LÉON BERNARD

Professeur de Clinique de la Tuberculose
Membre de l'Académie de Médecine
Médecin de l'Hôpital Laënnec

A MON REGRETTÉ MAITRE

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ CHARLES FOIX

Médecin de l'Hospice d'Ivry

A MON MAITRE

M. LE PROFESSEUR FRANCIS RATHERY

Professeur de pathologie expérimentale et comparée
Médecin de l'Hôtel-Dieu

A MON MAITRE

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ ROBERT DEBRÉ

Médecin de l'Hôpital Beaujon

A MON MAITRE

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ MAURICE CHIRAY

Médecin de l'Hospice de la Rochefoucault

A MON MAITRE

M. LE DOCTEUR ARMAND-DELILLE

Médecin de l'Hôpital Hérold

A MON MAITRE

M. LE DOCTEUR LOUIS DEVRAIGNE

Accoucheur de l'Hôpital Lariboisière

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Stage

1920-1921. M. le Professeur CHAUFFARD
M. le Professeur Pierre DUVAL
M. le Docteur GANDY

Externat

1922. M. le Professeur agrégé Pierre DESCOMPS
M. le Professeur agrégé Robert DEBRÉ
(Hôpital Bretonneau)
1923. M. le Professeur agrégé Charles FOIX
M. le Docteur Louis DEVRAIGNE

Internat

1924. M. le Docteur ARMAND-DELILLE
M. le Professeur agrégé SÉZARY
1925. M. le Professeur ROGER
M. le Professeur agrégé Charles FOIX
1926. M. le Professeur RATHERY
1927. M. le Professeur agrégé Robert DEBRÉ
(Hôpital des Enfants-Malades)
M. le Professeur Léon BERNARD

A MES AUTRES MAITRES

MM. AVIRAGNET, médecin de l'Hôpital des Enfants-Malades ; ALAJOUANINE, Léon BINET, professeurs agrégés, médecins des hôpitaux ; Henri BÉNARD, CATHALA, HEUYER, LÉVY-VALENSI, médecins des Hôpitaux.

MM. LEGROUX, G. RAMON, de l'Institut Pasteur.

MM. DEROCHE (*in memoriam*), TOURNEIX, Marcel LELONG, Georges HUC, anciens internes des hôpitaux.

RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES ET IMMUNOLOGIQUES

SUR

LA COQUELUCHE

INTRODUCTION

Si la découverte du bacille de Bordet-Gengou en 1906 demeure un fait scientifique dont il est superflu de qualifier l'importance, il faut bien reconnaître que sa répercussion, en ce qui concerne l'application pratique au diagnostic de la coqueluche est restée longtemps très médiocre.

La méthode de déviation du complément appliquée à la coqueluche est certainement excellente et donne les meilleurs résultats comme de nombreux travaux l'ont confirmé ; mais cette réaction n'apparaît qu'à la troisième semaine de l'affection. Elle n'est donc d'aucune utilité pour le diagnostic des formes normales. Elle permet, sans doute, de caractériser les formes atypiques et frustes de la maladie, mais là encore à une période tardive de leur évolution ; si elle apparaît d'un précieux appoint pour la certitude du diagnostic, le renseignement qu'elle fournit est bien tardif pour rendre vraiment opérantes les mesures prophylactiques.

Cette carence du laboratoire s'avère ici particulièrement fâcheuse, car elle s'allie à une carence complète de la clinique. Il est peu d'affections qui présentent à leur début, pendant une longue période d'une à deux semaines, de difficultés aussi réelles de diagnostic. Il est hors de conteste également qu'en dehors de conditions de contagion et d'épidémicité très particulières, nous méconnaissons toute une série de modalités anormales, frustes, dégradées, de la coqueluche. Ces formes de la maladie apparaissent cependant comme l'une des causes génératrices d'une épidémie.

Si d'autre part on rappelle que l'entité bactériologique identifiée par Bordet et Gengou est spécifique, que sa présence dans les voies pulmonaires est constante et abondante au début de la maladie, on demeure surpris de ne pas voir tirer davantage parti de ces conditions idéales pour la recherche bactériologique, et partant pour la certitude du diagnostic.

Les difficultés qui ont arrêté les chercheurs pendant plus de quinze ans tiennent principalement à deux causes. D'abord à la difficulté d'identifier le bacille Bordet Ce germe, en effet, pousse lentement, péniblement, et ses caractères microscopiques sont identiques à ceux du bacille de Pfeiffer. Cependant, les caractères macroscopiques des colonies de bacille de Bordet Gengou, sont si caractéristiques que nous estimons qu'on doit arriver rapidement à cultiver et à reconnaître avec grande certitude, le bacille de la coqueluche. Cette première difficulté disparaît donc après la période de tâtonnement inhérente à toute recherche.

Nous découvrons alors, comme cause principale de retard de l'application pratique de la découverte de Bordet, l'absence d'une méthode d'ensemencement applicable à la période catarrale de la coqueluche.

Dès 1900, Bordet avait observé dans l'expectoration coquelucheuse du début des quintes, la présence, en quantité innombrable, du bacille qui devait porter son nom.

Pour obtenir la culture de ce bacille, il ensemença donc cette expectoration. Le problème d'ailleurs n'était pas simple, puisqu'il nécessita six ans de patientes recherches. Il décrivit alors avec Gengou, tous les caractères de la nouvelle entité bactériologique.

Dans les années qui suivirent, les bactériologistes eurent surtout comme but de vérifier l'authenticité des faits avancés par Bordet et Gengou. Ils employaient la même méthode de culture, à savoir l'ensemencement de l'expectoration coquelucheuse. C'est ce que firent, en particulier, Meyer et Chievitz, à l'institut sérothérapique de l'Etat danois, sous la direction scientifique du professeur Madsen. En 1916, ces auteurs publièrent des constatations intéressantes : ils démontraient principalement que chez les malades qui ont présenté des quintes de coqueluche pendant une semaine au plus, ils obtenaient pour ainsi dire toujours, le microbe de la coqueluche. Si ces résultats contribuaient à affirmer la spécificité du bacille décrit par Bordet comme agent étiologique de la coqueluche, il faut bien reconnaître que la méthode n'apportait aucune aide, au diagnostic pratique de la maladie : la culture du bacille apparaît en effet dans

ces conditions comme superflue ; l'audition de la quinte avec sa reprise et son expectoration suffit alors, à l'entourage et au médecin, pour reconnaître avec certitude la maladie. Il fallait donc dépister le germe plus précocement dès la période catarrale. Meyer et Chievitz cherchèrent donc, là encore, à ensemencer une expectoration : ils ne rencontrèrent que des échecs. On le conçoit d'ailleurs puisque l'expectoration manque habituellement à cette période de la maladie ; ce qui en tenait lieu était constitué par du mucus pharyngé et des sécrétions nasales ; il était alors impossible de mettre en évidence par la culture de ces produits, la présence du bacille de Bordet-Gengou.

Il fallait donc trouver une autre méthode d'ensemencement. Elle leur fut suggérée, par hasard, par leur jeune collègue Emile Mauritzen. Elle consiste simplement à recueillir directement sur le milieu de Bordet, les gouttelettes que projette hors des voies pulmonaires tout accès de toux. Cette méthode nouvelle qui ne nécessitait, somme toute, que de la toux — et c'est tout ce que peut offrir le coquelucheux à la période catarrale — s'est bientôt révélée très précieuse et très fidèle dans ses résultats.

Meyer et Chievitz la firent connaître en 1916. Etudiée ensuite à l'étranger, en particulier en Amérique, sa valeur fut, dans l'ensemble, confirmée. En France, à part quelques observations isolées, qu'on trouvera citées dans notre exposé historique, aucune tentative de culture systématique n'avait été, à notre connaissance, sérieusement poursuivie.

Montrer l'intérêt de cette méthode, les particularités que l'expérience nous a révélées et la généraliser comme épreuve pratique permettant le diagnostic bactériologique précoce de la coqueluche.

Etudier les caractères du bacille de Bordet et en particulier ses races et sa faculté d'agglutination avec les sérums expérimentaux et thérapeutiques.

Préparer avec les souches isolées à Paris un vaccin et un sérum et en étudier l'action thérapeutique et prophylactique.

Modifier la prophylaxie en la rendant plus opérante et plus rationnelle.

Contribuer à l'étude anatomopathologique de la maladie, en particulier en ce qui concerne la situation du bacille dans les voies respiratoires.

Tels sont les principaux problèmes qui ont particulièrement retenu notre attention depuis plus d'un an. Il s'en faut d'ailleurs qu'ils soient tous résolus actuellement.

Ce travail a été entrepris à l'instigation de notre maître, le professeur agrégé Robert Debré et poursuivi sous sa direction. Il nous a fait profiter sans cesse de son expérience et de ses conseils. Nous tenons, pour cela et pour tout ce qu'il nous a appris, à lui témoigner notre reconnaissance et notre attachement.

Toutes nos recherches bactériologiques ont été poursuivies en collaboration avec notre ami, le Dr H. Prétet. Tout ce qui est ici lui appartient également.

Après avoir résumé l'histoire de la bactériologie de la coqueluche, nous étudierons dans ce travail les carac-

tères du bacille de Bordet-Gengou et le diagnostic bactériologique de la coqueluche. Nous exposerons les résultats de nos recherches sur les épreuves d'agglutination et les diverses méthodes qui ont confirmé l'authenticité de nos souches. Nous exposerons enfin, notre façon de concevoir la prophylaxie de la coqueluche.

HISTORIQUE DE LA BACTÉRIOLOGIE DE LA COQUELUCHE

La spécificité évidente de la coqueluche a incité de très nombreux bactériologistes à rechercher le germe responsable de la maladie. Nous serons brefs sur les découvertes des premiers auteurs qui ont considéré comme bacilles de la coqueluche les germes d'infection secondaire les plus variés.

Parmi ces multiples bactéries, un type morphologique fut assez fréquemment décrit : ce sont des bacilles fins, petits, se rapprochant du bacille de Pfeiffer.

Avec Giese, on peut les diviser en deux groupes ; dans le premier groupe, on range les bactéries hémoglobinophiles obtenues par l'ensemencement de l'expectoration ; tels sont les microbes décrits : en 1897 par Spengler ; en 1901 par Yochmann et Krause ; en 1903 par Reyer. Dans le second groupe, comprenant les bactéries non hémoglobinophiles, nous citerons le bacille de Czaplewski (1897), de Vincenzi (1910), d'Arnheim (1900), de Manicatide (1913-1927).

Nous nous contenterons de donner quelques détails sur les bacilles de Czaplewski, de Yochmann et Krause et de Manicatide, parce que l'attention a été, à certains moments, spécialement attirée sur eux.

Le bacille de Czaplewski, retrouvé par Arnheim en 1900, par Reyher en 1903, a été constaté dans les coupes du larynx où il se trouvait dans les cellules plates de l'épithélium. En fait, quelques années plus tard, Mallory et ses collaborateurs découvraient dans les mêmes conditions le bacille de Bordet-Gengou. La bactérie de Czaplewski se développe sur les milieux usuels et n'est pas agglutinée par le sérum de convalescent de coqueluche.

Le bacille décrit par Yochmann et Krause est, à n'en pas douter, le bacille de Pfeiffer : il en présente tous les caractères morphologiques et culturaux. Les réactions sérologiques font d'ailleurs habituellement défaut, malgré les quelques réserves de Giese.

Manicatide a décrit en 1913 un nouveau bacille de la coqueluche sur lequel nous n'aurions pas insisté si cet auteur n'était revenu très récemment sur sa découverte. Le Bacille z de Manicatide, est une bactérie de 2 à 3 μ, gram positif (si on n'insiste pas sur la décoloration par l'alcool). Il donnerait sur milieux au sang, milieux au sérum, de petites colonies arrondies, transparentes, bleuâtres à la lumière réfléchie. Cet auteur aurait, de plus, constaté les propriétés agglutinantes du sérum de coquelucheux vis-à-vis du Bacille z après le 16e jour de la maladie ; il aurait observé dans 20 % des cas une réaction positive au 1/200, dans 35 % des cas une réaction positive au 1/150, dans 20 % des cas une réaction positive au 1/50 et dans 5 % des cas, une réaction négative.

De même, la réaction de déviation du complément

avec le sérum de coquelucheux serait positive après le 16e jour dans 65 % des cas, faible dans 20 % et négative dans 15 %. Mais jusqu'à présent, Manicatide est demeuré, à notre connaissance, le seul auteur ayant étudié le Bacille z.

La diversité même des germes décrits par ces différents auteurs, plaide bien pour leur non spécificité. La rapidité avec laquelle l'expectoration coquelucheuse est envahie par les microbes d'infection secondaire, suffit à expliquer les méprises multiples et récidivantes. En somme c'est le travail de Bordet et Gengou, en septembre 1906, qui mit de la clarté et marqua une date décisive dans la bactériologie de la coqueluche. Ces deux auteurs exposent les difficultés qu'ils ont rencontrées dans le choix de l'expectoration convenant à la culture ; ils insistent sur la fréquence avec laquelle ils constatèrent la présence d'un bacille analogue à celui de Pfeiffer, que d'autres bactériologistes considéraient comme le microbe spécifique « opinion d'abord compréhensible, tant la présence de ce micro-organisme était fréquente ». Mais comme le faisaient remarquer Bordet-Gengou, trois objections à cette manière de voir restaient sans réponse : d'abord, l'exsudat typique que Bordet avait observé en 1900 n'avait pas cultivé sur de la gélose au sang où le microbe de l'influenza aurait facilement prospéré.

Ensuite malgré de multiples tentatives, jamais ces auteurs n'ont pu mettre en évidence dans le sérum d'enfants convalescents de coqueluche, de propriétés particulières à l'égard du bacille de Pfeiffer.

Enfin on ne pouvait oublier que ce microbe ne se présente pas seulement dans la coqueluche mais se rencontrait communément au cours d'affections respiratoires les plus diverses aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant. C'est pourquoi Bordet et Gengou poursuivirent leurs recherches et obtinrent finalement en 1906 les cultures d'un microbe, qu'ils présentèrent comme le véritable agent pathogène de la coqueluche.

Nous en décrirons plus loin les caractères morphologiques et culturaux. Nous dirons simplement ici que Bordet et Gengou, apportèrent comme preuves de l'authenticité du germe décrit par eux, les résultats de l'agglutination et de la déviation du complément, obtenus avec des sérums de coquelucheux et une émulsion de leur microbe.

A partir de cette date mémorable, deux périodes doivent être distinguées dans l'histoire bactériologique de la coqueluche.

Dans une première période, d'une dizaine d'années, les auteurs ont surtout comme but, de vérifier l'authenticité des faits avancés par Bordet.

Dans une seconde période qui commence en 1916 par les beaux travaux de Meyer et Chievitz, on cherche à utiliser pour le diagnostic pratique de la coqueluche, la découverte de Bordet-Gengou.

Parmi les auteurs confirmant les constatations de Bordet et Gengou, nous citerons pour l'obtention des cultures Seiffert (12 + sur 16), Klimenko (5 + sur 5), Inaba et Finizio (81 + sur 93), Frankel (8 + sur 38), Arnheim (6 + sur 20), Odaira (6 + sur 35), Wollstein

(5 + sur 20), Povitzky (18 + sur 55), Williams (27 + sur 187).

Enfin Meyer et Chievitz (1915) et Giese (1918), déclarent que leurs recherches ayant confirmé la découverte de Bordet-Gengou, ils se sont considérés comme fondés à conclure que « Bordet et Gengou avaient eu raison en désignant comme bacille de la coqueluche le germe décrit par eux » (Meyer et Chievitz).

De même, de nombreux travaux que nous remémorerons aux chapitres correspondants de cette étude, justifient les constatations de Bordet et Gengou, en ce qui concerne les réactions sérologiques pratiquées avec une émulsion de microbes et le sérum de convalescent de coqueluche.

La reproduction expérimentale de la maladie fut elle-même obtenue par Frankel chez le singe ; il réussit à déterminer une maladie bénigne avec toux aboyante, quinteuse et avec reprises.

En somme la concordance de tous ces travaux bactériologiques, immunologiques, sérologiques, expérimentaux, nous autorisent à considérer comme définitivement acquis, que le microbe décrit par Bordet et Gengou représente bien l'agent étiologique de la coqueluche.

Ce qu'il importe donc, ce n'est plus de discuter l'authenticité d'un germe, mais de rechercher les applications pratiques de la découverte de Bordet en ce qui concerne le diagnostic et la thérapeutique de la coqueluche.

Meyer et Chievitz, les premiers, ont eu l'idée de

réaliser le diagnostic bactériologique de la coqueluche et nous avons déjà dit comment ils avaient été conduits à étudier la méthode d'ensemencement « par projection de gouttelettes », ou plus simplement, *méthode d'ensemencement de la toux*.

A New-York, Krumviede et ses collaborateurs, décrivent, grâce aux agglutinations combinées, deux races A et B de bacilles de Bordet-Gengou.

Par contre, Zinsser, Kristensen, montrent l'homogénéité du bacille de la coqueluche, l'un à Boston, l'autre à Copenhague.

En France, peu de recherches bactériologiques ont été poursuivies sur ce sujet.

Barbier et Renard en 1922 font, chez un enfant atteint de coqueluche fruste, le diagnostic bactériologique par la méthode danoise.

Libert publie en 1920 dans les *Annales de médecine* une revue critique de la bactériologie de la coqueluche. Enfin quatre thèses récentes ont été consacrées à ce même sujet.

Pellé (1918) étudie très consciencieusement la réaction de déviation mais n'a pu entreprendre par suite de la guerre les cultures de bacilles de Bordet.

Deflou (1922) présente une bonne revue générale des travaux danois sans aucune contribution personnelle à l'étude bactériologique.

Pécout (1922) n'étudie que la bactériothérapie de la coqueluche.

Le travail de Dansac (1924) inspiré par M. Robert Debré, comporte une étude clinique des coqueluches

frustes et atypiques et une tentative d'étude bactériologique par la méthode de Mauritzen ; il rapporte 4 observations où il a pu isoler le bacille de Bordet-Gengou.

Tels sont, à notre connaissance, les quelques travaux français parus sur ce sujet.

LE BACILLE DE BORDET-GENGOU

Les caractères morphologiques, culturaux et sérologiques du bacille de la coqueluche ont été précisés dès la première publication de Bordet et Gengou. Les auteurs qui étudièrent ensuite cette question n'ont guère apporté que des précisions secondaires.

Au point de vue morphologique, le bacille de Bordet-Gengou se présente sous la forme d'une petite bactérie ovoïde dont les dimensions n'excèdent pas 1 à 2 μ de longueur et 1/3 μ de largeur. Sa forme en navette est assez constante quels que soient les milieux sur lesquels il cultive. Dans les cultures après repiquages, les bacilles sont disséminés sans ordre, assez souvent deux par deux, bout à bout, à la façon des diplocoques. Quoique ayant beaucoup moins de tendance au pléomorphisme et à l'involution que le bacille de Pfeiffer, ils peuvent s'allonger jusqu'à former de vrais filaments, en particulier dans l'eau de condensation des cultures. Par contre, ils diminuent de grandeur quand on les cultive continuellement sur le milieu de Bordet. Ils se présentent alors comme des bacilles très fins, presque en coques, de 1/2 à 3/4 μ de longueur; mais à côté d'un grand nombre d'éléments cocciformes, on trouve des bactéries nettement plus allongées. Le

bacille de la coqueluche reprend d'ailleurs aisément sa forme primitive si on lui fait subir un passage dans un milieu liquide et qu'on le reporte ensuite sur le milieu solide.

Le bacille de Bordet-Gengou est immobile. Il ne prend pas le Gram, ne forme pas de spores ; coloré par le bleu phéniqué de Kühne ou le bleu de toluidine (1), il se teinte assez faiblement et de façon plus intense sur les bords et aux extrémités (forme en navette avec espace clair central). La coloration est souvent lilas ; cette coloration métachromatique est d'ailleurs, pour Klimenko et Giese, une propriété commune à la plupart des microbes hémophiles. Giese a observé constamment la coloration élective des extrémités sauf dans des cultures âgées, cultivées continuellement sur le milieu de Bordet. Il n'a jamais observé les grains polaires de Babes-Ernst contrairement à Klimenko.

En somme, cette morphologie est extrêmement voisine de celle du bacille de Pfeiffer, sinon tout à fait dentique (forme plus régulièrement ovoïdale ; longueur un peu plus grande ; espace clair central plus net et plus constant du bacille de Bordet-Gengou) et il est impossible, à notre avis, de distinguer les deux espèces

1. Bordet et Gengou recommandent le bleu de toluidine phéniqué dont voici la formule :

Bleu de toluidine (Grübler).....	5 grammes.
Alcool.....	100 cc.
Eau.....	500 grammes.

On attend la dissolution complète puis on ajoute 500 grammes d'eau phéniquée à 5%. On filtre après un jour ou deux.

sur des frottis de culture ou d'expectoration et sur des coupes anatomiques. Le Bacille de Bordet est strictement aérobie.

Cultures.

Comme nous le verrons plus loin, les cultures sont assez facilement obtenues au départ de l'organisme sur le milieu de Bordet, soit par l'ensemencement de la toux, soit par l'ensemencement de l'expectoration.

Nous rappellerons ici la préparation du milieu de Bordet.

Milieu de Bordet.

On fait cuire jusqu'à obtention d'une purée 500 gr. de pommes de terre coupées en tranches, dans un litre d'eau glycérinée à 4%. On ramène après cuisson au volume primitif. Après décantation, la partie liquide du mélange représente un extrait glycériné qui est additionné de 3 fois son volume d'eau salée à 6‰.

On ajoute alors à la dilution, 3% de gélose préalablement lavée, on fond à l'autoclave, on répartit en ballons de 100 ou 300 cc. on stérilise. Ce milieu a un pH de 5,8 quelle que soit l'espèce de pommes de terre employée.

Pour l'usage, on ajoute à chaque ballon dont le contenu a été liquéfié au bain-marie et ramené à la température de 45-50°, partie égale de sang défibriné de cheval, également porté à la température de 45°.

On assure un mélange homogène par agitation et on coule en boîtes de Pétri.

Le milieu forme alors une masse rouge solide. Dans le cas où sa consistance serait trop molle, il suffirait d'ajouter 4 à 5% d'agar-agar au lieu de 3%.

Ce milieu peut être conservé pendant une quinzaine de jours à la glacière, mais pendant quelques jours seulement à la température ordinaire.

Il serait préférable de couler le milieu non dans des boîtes de Pétri mais dans des boîtes métalliques. Ces boîtes peuvent être expédiées par la poste, sans craindre la dislocation de la gélose sanglante.

Les colonies de bacilles de Bordet-Gengou ayant poussé sur ce milieu, sont repiquées sur des tubes inclinés de gélose-sang ordinaire et nous obtenons régulièrement une mince strie blanche qui s'épaissit par la suite. Dès le deuxième passage et à condition que l'ensemencement soit assez abondant il est possible d'obtenir une culture de microbe de la coqueluche sur des milieux privés de sang, par exemple sur gélose ascite ; mais cette culture se fait au début très lentement nécessitant 4 à 7 jours, pour obtenir une végétation nette. Après un entraînement progressif et quelques passages sur milieu au sang, la culture sur gélose ascite sera très facile et beaucoup plus rapide donnant une couche blanche, d'aspect gras et humide, assez épaisse après 2 ou 3 jours.

Absolument incultivable sur les milieux usuels stérilisés à l'autoclave, gélose, gélatine, bouillon ordinaire,

il se développe bien dans les milieux liquides (1), en affectant des formes plus inconstantes, souvent plus grandes et plus gonflées, formant quelquefois des chaînettes de 3 à 4 éléments.

Ce microbe est assez sensible à l'action de la chaleur. Le chauffage à 50° suffit pour le tuer et le fait de le maintenir à 40-42° atténue déjà considérablement sa croissance.

Caractères pathogènes pour l'animal.

Le Bacille de Bordet est peu pathogène pour les petits animaux de laboratoire. La souris, le cobaye, le lapin ne succombent qu'à l'inoculation de quantités relativement importantes de cultures.

Le microbe ne secrète pas d'exotoxine; il agit par ses endotoxines qui ont été obtenues par Bordet et Gengou et qui paraissent attaquer spécialement les endothéliums vasculaires et provoquer des hémorragies viscérales. Chez un lapin ayant succombé à une inoculation massive, nous avons constaté une congestion intense des capsules surrénales et du parenchyme rénal, surtout dans la zone corticale. On sait enfin que les inoculations intratrachéales ont pu provoquer chez des singes un syndrome très analogue à la coqueluche (Klimenko, Frænkel).

1. Bouillon glycériné à 1 % additionné de partie égale de sang ou de sérum limpide de lapin.

Conservation des souches

La vitalité des souches conservées sur milieux solides est assez considérable si le milieu est protégé contre la dessiccation. Nous utilisons volontiers dans ce but la gélose ordinaire au sang de cheval (gélose 9 cc., sang défibriné stérile 1 cc.) en tubes inclinés capuchonnés. Les repiquages peuvent être effectués seulement toutes les 5 ou 6 semaines.

Legroux, de l'Institut Pasteur de Paris, a proposé un milieu à l'amidon dont la composition est la suivante :

Milieu de Legroux.

On prépare le mélange suivant :

Amidon en poudre.....	7 grammes
Eau.....	100 cc.

On assure la division de l'empois dans l'eau et on répartit en tubes. Cette solution aqueuse d'amidon est stérilisée à l'autoclave à 110-112° pendant 20 minutes puis incorporée à la proportion de 30 à 40 % à la gélose préalablement fondue ou au bouillon ordinaire.

Sur les géloses maintenues à 37° apparaissent au bout de 2 à 3 jours de très petites colonies dont l'aspect macroscopique est sensiblement identique à celui qui est obtenu sur le milieu de Bordet et que nous décrivons plus loin en détail.

Le frottis d'une culture de 2 à 3 jours montre de petites formes bacillaires minces très vivement colorées.

Après 2 à 3 semaines les formes bacillaires sont toujours aussi vivement colorables. Elles sont 2 à 3 fois plus longues que les formes précédentes et sont discrètement sinueuses ou incurvées.

En bouillon, la culture à 37° donne un trouble progressif en surface, voile muqueux d'où se détachent des traînées visqueuses et sinueuses qui gagnent lentement le fond du tube. Bientôt se constitue un culot, le milieu demeurant toujours trouble.

Le culot est visqueux blanchâtre, s'élève lentement par agitation et atteint la surface du milieu alors qu'il est encore adhérent au fond du tube.

Les recherches ultérieures de M. Legroux, lui ont montré que dans le milieu original de Bordet, la substance la plus utile à la culture du bacille de la coqueluche est apportée non par le sang ni par la glycérine mais par la pomme de terre. Cette substance (une vitamine D), serait beaucoup plus active si elle n'est pas soumise à l'action de la chaleur. Aussi, cet auteur préconise actuellement, l'emploi d'un milieu composé en ajoutant à une gélose peptonée ordinaire, une petite quantité (1 pour 20) d'une macération à froid de pomme de terre stérilisée par filtration sur bougies et une quantité équivalente de sérum humain stérile.

Ce milieu se montre favorable à la culture du bacille de Bordet-Gengou. Il serait intéressant de vérifier sa valeur pour cultiver le microbe au sortir de l'organisme, et nous avons l'intention d'entreprendre prochainement cette recherche.

Les auteurs américains utilisent pour le repiquage des

souches et surtout pour obtenir des cultures servant à la préparation des sérums expérimentaux, un milieu spécial, dit milieu chocolat, qui est une gélose au sang dont nous indiquons plus loin la préparation.

LE BACILLE DE BORDET DANS L'ORGANISME

Nous terminerons cette étude du bacille de Bordet, en indiquant avec quelle fréquence et dans quelles conditions on a pu caractériser sa présence dans l'organisme vivant ou mort.

Hémocultures.

Klimenko a pratiqué trente hémocultures durant la période spasmodique en ensemençant 2 à 4 cc. de sang. Il n'obtint aucun résultat positif. Il est très vraisemblable d'ailleurs que le microbe de la coqueluche reste cantonné dans les voies respiratoires et qu'il agit à distance par ses toxines. Cependant, s'il existait une bactériémie, nous pensons qu'elle se produirait vraisemblablement à la phase catarrale, et c'est à cette période plutôt qu'à la phase des quintes, qu'il y aurait lieu de pratiquer l'hémoculture.

Ensemencement du sang du cœur.

Seiffert et Klimenko ont obtenu, chacun de leur côté, un résultat positif en ensemençant le sang de l'oreillette droite de sujets morts de broncho-pneumonie coquelucheuse. Expérimentalement, Klimenko a constaté qu'on

pouvait obtenir des résultats positifs fréquents si on attend une dizaine d'heures avant de pratiquer l'autopsie de l'animal injecté.

Présence du bacille de Bordet dans les viscères.

Odaira a réussi la culture pure après ensemencement des poumons, dans 2 cas sur 7. Wolstein dans un cas, tandis que les 6 autopsies de Arnheim furent négatives.

Dans un seul cas, Seiffert a pu isoler le bacille de Bordet, des poumons, des bronches, du foie et du sang d'un malade atteint de coqueluche et mort de bronchopneumonie.

Mallory et ses collaborateurs, dans deux cas, ont cultivé le bacille de Bordet en ensemençant à l'autopsie le larynx, la trachée et les grosses bronches. Ils se sont cru autorisés à conclure que le fin microbe, Gram négatif, trouvé sur les coupes parmi les cils vibratiles de la muqueuse trachéale, dans ces 2 cas, était le bacille de la coqueluche.

Nous avons cherché à vérifier les constatations de ces auteurs.

Nous avons été particulièrement gênés par l'obligation qui nous est imposée à Paris, d'attendre 24 heures avant de pouvoir pratiquer une autopsie. Les cils vibratiles sont en effet détruits vers la 6e heure ; dans de semblables conditions de travail, l'étude de l'histologie pathologique fine est rendue illusoire. Nous avons cherché à tourner la difficulté en fixant le pou-

mon rapidement après la mort, en injectant du liquide de Bouin par la voie trans-glottique.

Après plusieurs déboires, nous avons pu réussir dans de bonnes conditions de temps et de fixation, deux autopsies. La trachée, les grosses bronches ont été examinées en série avec M. Norman, au laboratoire d'anatomie pathologique du professeur Letulle. Nous n'avons pas vu dans les cils vibratiles qui persistaient, d'éléments bacillaires aussi caractéristiques que ceux qui ont été décrits par Mallory et ses collaborateurs. Il nous est impossible de conclure actuellement et nous avons l'intention de continuer ces recherches.

LE DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA COQUELUCHE

La bactérioscopie ne pouvant pas être utilisée pour le diagnostic de la coqueluche, le diagnostic bactériologique ne peut être fourni que par la culture du bacille de Bordet-Gengou.

L'obtention de cette culture, au départ de l'organisme est conditionnée :

1° Par le choix du milieu ;

2° Par la méthode d'ensemencement ;

3° Par l'identification du germe.

1° Le choix du milieu.

C'est la difficulté avec laquelle le bacille de la coqueluche pousse sur les milieux usuels, qui empêcha Bordet et Gengou de cultiver dès 1900, la petite bactérie qu'ils avaient découverte, en quantité innombrable, dans l'exsudat épais et blanchâtre rejeté par les quintes au début de la maladie.

On sait qu'après 6 ans de recherches, ces auteurs préconisèrent pour la culture du bacille de la coqueluche, le milieu dont nous avons donné la composition.

Ce milieu fut employé par la plupart des auteurs

dans leurs recherches ultérieures. Meyer y apporta, par la suite, quelques modifications ; la principale fut la substitution au sang humain ou au sang de lapin, du sang défibriné de cheval qu'on se procure beaucoup plus facilement. D'autre part, Meyer alcalinise l'extrait glycériné de pommes de terre dilué dans l'eau salée, de façon à obtenir un Ph 7 à 7,5. Ensuite il acidifie en ajoutant 3 cm^3 d'acide lactique normal à 400 cmc. du mélange de gélose et de sang.

Le milieu de Bordet, à notre avis, présente indiscutablement des avantages pour la culture du bacille de la coqueluche au départ de l'organisme. Sans doute les germes saprophytes (champignons de la flore buccale, bacillus subtilis, streptocoques, staphylocoques, micrococcus catarralis, etc.), se développent sur ce milieu ; et il est indéniable que, parfois, leur prolifération est telle qu'ils envahissent la presque totalité de la plaque. Mais le plus souvent il n'en est rien : après 3 jours d'étuve les colonies de saprophytes ne pullulent pas ; de même elles ne s'accroissent pas considérablement ; si bien que l'apparition du bacille de la coqueluche n'est pas entravée et que ses colonies ont de la place sur la surface du milieu pour se développer.

Nous attribuons ces avantages du milieu de Bordet à l'absence de peptone et il n'est pas douteux, que la végétation des saprophytes serait autrement luxuriante et envahissante, si on ensemençait dans les mêmes conditions, un milieu peptoné additionné d'une même quantité de sang.

Cependant, dans l'espoir d'empêcher davantage encore

le développement des saprophytes sans nuire à celui du bacille de Bordet, Olga Povitzky étudia la faculté de croissance de ces divers germes suivant les variations de l'acidité ionique du milieu. Povitzky préconisa finalement d'ajouter au milieu de Bordet, après la dernière stérilisation, une certaine quantité d'acides organiques dilués (acide acétique en particulier) de façon à amener le Ph à 5 ou 4,5. Dans ces conditions le développement du bacille de Bordet serait parfait et celui des bactéries saprophytes très entravé.

Nous avons utilisé au début de nos recherches ces deux milieux. Les cultures obtenues par ensemencements comparatifs sur milieu Bordet et sur milieu acidifié se sont montrées sensiblement identiques. De plus les milieux acidifiés noircissent beaucoup plus vite à l'étuve, ce qui n'est pas un avantage. Ne trouvant pas d'utilité évidente à employer ce milieu acide, nous avons ensuite pratiqué tous nos ensemencements sur le milieu classique de Bordet, remplaçant simplement le sang de lapin par du sang défibriné de cheval.

Pendant que nous poursuivions nos recherches, est paru l'important travail de Lawson et de ses collaborateurs. Ils ont spécialement étudié les valeurs du pH du milieu de Bordet-Gengou et nous exposerons brièvement leurs résultats. Nous savons déjà que Povitzky avait avancé que la réaction optima pour la culture du bacille de Bordet était pH 5 avec limites d'acidité normale favorable comprises entre pH 4.4 et pH 6.1. Mais les titrages de Povitzky portaient sur un milieu de Bordet qui n'avait pas encore été additionné de sang (25 %).

Elle admettait « que la réaction pouvait être changée *légèrement* par le sang ». En réalité ce changement est très notable. Dans une série d'expériences, Lawson et ses collaborateurs étudièrent les valeurs du pH d'un milieu de Bordet dans les conditions suivantes :

1° Avant addition de sérum, le milieu Bordet étant adapté à des degrés différents d'acidité (pH 7 à 4,5).

2° Après addition de sérum (1) dans la proportion de 5, 10, 25, 50 %.

Ces auteurs constatèrent alors que le pH optima terminal était compris entre 6.6 et 7.3, et que pour l'obtenir pratiquement, il suffisait d'ajouter au milieu de Bordet non ajusté (pH 6.2) une quantité de sang donnant une concentration finale de 5 à 10 % seulement.

Si on mélange par parties égales sang et milieu glycériné comme dans la technique de Bordet (qui est celle que nous avons suivie), il importe peu que le pH initial soit 4, 5, ou 7, la réaction finale étant toujours au-dessus de 7. Toutefois cette réaction ne dépasse pas pH 7.4 et convient donc encore à la culture du Bacille de Bordet-Gengou. Le principal avantage de la technique de Lawson est donc d'économiser une quantité notable de sang.

Deux autres points ont été précisés par ces auteurs ; ils conseillent de stériliser le milieu d'une manière fractionnée, en le portant pendant une heure, trois jours de suite, dans le stérilisateur d'Arnold. Ils estiment en effet

1. L'addition de sérum est comparable à l'addition de sang complet.

que la stérilisation commune à l'autoclave détruit la vitamine de la pomme de terre, utile au développement du bacille.

D'autre part, ils ont remarqué que l'emploi d'un sang frais convenait mieux pour la culture du bacille Bordet. Quand le sang employé pour la préparation du milieu avait été recueilli plus de 72 heures avant l'ensemencement, non seulement les colonies de Bordet n'hémolysaient pas spontanément, mais la culture était considérablement moins luxuriante que sur les plaques préparées avec le sang frais.

2° La méthode d'ensemencement.

La culture du bacille de Bordet peut être tentée en étalant sur le milieu, une parcelle de l'expectoration filante et visqueuse qui clôt la quinte de coqueluche. Il faut recueillir l'expectoration du malade sur une spatule stérile, et la délayer dans une solution saline physiologique stérile. On choisit alors un petit flacon visqueux qui sert à ensemencer la boîte de Pétri.

Nous avons montré déjà, que cette technique ne peut pas être employée pour aider au diagnostic précoce. Nous nous sommes servis exclusivement de la méthode préconisée par Mauritzen : l'ensemencement des gouttelettes projetées par la toux.

Elle paraît extrêmement simple : Lors d'un accès de toux, la boîte de Pétri est ouverte et la surface du milieu est présentée à 10 centimètres de la bouche de l'enfant pendant 1/4 de minute environ.

Cet ensemencement constitue, d'après notre expérience, un temps capital et délicat ; c'est de lui que dépend la réussite de la culture et il n'est pas si facile qu'on le croit d'obtenir un bon ensemencement. Nous insistons sur la nécessité de ne pas demander à l'enfant de tousser volontairement. Nous ne désirons pas non plus, provoquer la toux en irritant légèrement le pharynx et la luette avec l'abaisse-langue.

Ces manœuvres déclenchent rarement la « bonne » toux : le plus habituellement elles déterminent une toux artificielle, qui est un bruit pharyngo-laryngé et non une toux réelle et qui aboutit, comme résultat, à une projection de gouttelettes très riches en saprophytes et très pauvres en bacille de Bordet. Sans compter que dans certains cas ces manœuvres déterminent non pas de la toux, mais des efforts de vomissements et même le vomissement ; dans ces conditions, ou l'ensemencement a été souillé, ou l'enfant n'est plus en confiance et l'ensemencement correct devient difficile ou impossible. C'est ainsi que chez le petit enfant de 2 à 5 ans, le simple fait d'abaisser la langue avec une cuiller pendant la durée de l'ensemencement, suffit souvent à déclencher l'hostilité du patient et gêne considérablement la bonne réussite de l'ensemencement. Aussi nous nous abstenons habituellement de pratiquer ou de faire pratiquer cette manœuvre, cependant conseillée par Meyer et Chievitz mais qui est, à notre avis, plus souvent nuisible qu'utile. Actuellement, nous ne voulons plus ensemencer les milieux en demandant de la toux « au commandement ». C'est dire que l'ensemen-

cement fait par le médecin qui ne peut pas attendre la toux spontanée de l'enfant, risque d'être, trop souvent, un mauvais ensemencement. Nous conseillons donc d'expliquer à une personne de l'entourage, la mère habituellement, la technique si simple de la méthode et c'est au cours d'une série de secousses de toux naturelle, soit la nuit, soit le jour, que l'ensemencement sera pratiqué. Ces petits détails ont, à notre avis, une grande importance, comme la positivité des résultats des cultures nous en a convaincus.

Un autre point à préciser est le nombre de plaques à ensemencer : 3 au moins, sont nécessaire. Le mieux serait d'en consacrer 5 à 6 par enfant : on augmente alors les chances de rencontrer, au moins sur une boîte, quelques colonies spécifiques.

Les plaques ainsi ensemencées seront mises à l'étuve à 37°. Toutefois, il faut savoir que le bacille de Bordet peut parfaitement vivre sur le milieu pendant plusieurs jours avant d'être mis à l'étuve. Cette propriété permet donc le diagnostic à distance de la coqueluche, couramment pratiqué au Danemark.

3° L'identification du germe.

Les plaques de milieu de Bordet ensemencées sont laissées à l'étuve à 37° et observées plusieurs jours de suite.

Après 24 heures, on constate l'apparition d'un certain nombre de colonies, d'aspect variable, laissant entre elles de plus ou moins vastes espaces de gélose vierge.

Le deuxième jour le nombre de colonies visibles n'a pas sensiblement augmenté.

Le troisième jour, parfois même à la fin du 2e jour, on voit apparaître, au niveau des plages vierges la veille, de très fines colonies, à la limite de la visibilité, du diamètre de la pointe d'une aiguille, qui à la loupe, apparaissent nettement arrondies, surélevées, blanchâtres.

Dans le courant de la 3e journée, ces nouvelles colonies grandissent rapidement pour atteindre un millimètre de diamètre et présentent alors *un aspect des plus caractéristiques*. Elles restent nettement arrondies, à bords réguliers, surélevés ; vues sous une lumière oblique, elles ont une surface luisante, nacrée, un reflet métallique qui les ont très justement fait comparer à des gouttelettes de mercure. Si le milieu n'est pas en couche trop épaisse, on constate facilement qu'elles s'entourent d'un halo blanchâtre d'hémolyse.

Quelques précisions nous paraissent utiles en ce qui concerne le diamètre des colonies et leur nombre.

Si les colonies, lors de leur apparition sont très fines, en pointe d'aiguille et si habituellement elles ne dépassent guère un demi à un millimètre de diamètre lorsqu'elles ont atteint leur plein développement, il arrive parfois qu'elles présentent rapidement,dès la fin du 2e jour ou au début du 3e jour, des dimensions plus grandes. Nous avons ainsi observé plusieurs fois des colonies de 1 millimètre et demi à 2 millimètres de diamètre. La méthode d'ensemencement de la toux fournit d'ailleurs des colonies plus grandes que l'ense-

mencement de l'expectoration, comme l'ont signalé, les premiers, Meyer et Chievitz.

Le nombre des colonies est très variable. Dans des cas ensemencés à la période catarrale, nous avons obtenu des cultures extrêmement riches, avec des centaines de colonies de Bordet, recouvrant une seule plaque.

A cette période d'ailleurs, les plaques sont bien moins riches en colonies saprophytes et le bacille de Bordet représente le germe prédominant. C'est cette constatation qui nous fait tant insister sur les conditions de l'ensemencement. On oserait presque dire que le résultat de la culture dépend moins du milieu et de la densité microbienne, que de l'habileté à faire rejeter le bacille de Bordet par la toux et à le recueillir sur la surface de la plaque sanglante.

Assez souvent nous n'avons compté sur une plaque, que 4 à 5 colonies. Plusieurs fois, nous n'avons découvert qu'une seule colonie, mais caractéristique.

Nous avons rencontré peu de difficultés, à identifier les colonies du bacille de la coqueluche. Dès le début de nos recherches, sur le simple aspect macroscopique puis microscopique, nous avons affirmé deux résultats positifs. L'agglutination pratiquée avec ces deux souches quelques huit mois plus tard justifia notre première identification.

Il est classique de répéter que le problème le plus délicat est de distinguer le bacille de Pfeiffer du bacille de Bordet. Si *microscopiquement*, cette distinction par l'étude des caractères morphologiques de ces germes

demeure, en effet, impossible, il nous paraît également impossible, *macroscopiquement*, de confondre sur les plaques les colonies de Bordet et les colonies de Pfeiffer.

Ces dernières se développent bien plus rapidement. Elles sont apparues dès les 24 premières heures alors que le bacille de Bordet demande au minimum deux et souvent trois jours. Les colonies de Pfeiffer sont plus plates et surtout transparentes ayant l'aspect de fines gouttelettes de rosée. Ainsi, date d'apparition différente des colonies, aspect nullement comparable des colonies, tels sont (pour nous en tenir aux simples caractères macroscopiques, fournis par l'examen direct des plaques), les signes différentiels permettant de distinguer le bacille de Bordet du bacille de Pfeiffer.

Quant aux dizaines ou aux centaines de colonies des autres germes, elles sont ou trop précoces, ou trop volumineuses, ou de teinte trop particulière pour risquer d'être confondues avec les colonies du bacille de la coqueluche.

En somme, notre expérience nous permet d'affirmer, que, *sur la surface du milieu de Bordet, parmi les dizaines ou les centaines de colonies diverses, un bactériologiste ayant une pratique suffisante de cette recherche, sait reconnaître avec quasi certitude et d'après le simple aspect macroscopique, les colonies du bacille de la coqueluche.*

Cependant il faut savoir que les colonies de bacilles de Bordet ne présentent pas toujours l'aspect caractéristique que nous avons décrit et que le brillant nacré, métallique, n'est pas toujours prononcé. On peut donc

découvrir, parfois, des colonies de Bordet d'une coloration très blanche, ayant quelques ressemblances avec celles du micrococcus catarralis. Meyer a montré, en particulier, que cette variation de teinte des colonies de Bordet, s'observe surtout quand les milieux sont insuffisants et un peu secs.

De toute façon, pour identifier les colonies, douteuses ou non, avec plus de précision, il est nécessaire de les prélever pour un examen plus détaillé.

Déjà, cette manœuvre permet de reconnaître quelques caractères particuliers aux colonies de bacilles de Bordet. D'abord, le fil de platine les saisit facilement sur la plaque de gélose. Au contraire les colonies de micrococcus catarralis, qui parfois peuvent induire en erreur, sont difficilement saisissables et fuient devant le fil de platine en glissant sur la surface du milieu.

La colonie ainsi prélevée est portée sur lame et émulsionnée dans une goutte d'eau. On constate ainsi que la colonie de Bordet s'émulsionne toujours très facilement. Si l'émulsion est difficile on peut prévoir qu'il ne s'agira vraisemblablement pas du bacille de la coqueluche.

La coloration par la méthode de Gram met, enfin, en évidence les caractères morphologiques et les propriétés tinctoriales de ces germes. Nous rappellerons que le bacille de Bordet-Gengou se présente sous la forme d'une petite bactérie ovoïde, d'un cocco-bacille dont les dimensions n'excèdent pas 1 à 2 μ, Gram négatif, faiblement coloré par la fuschine diluée et de façon

plus intense sur les bords et aux extrémités (forme en navette avec espace clair médian).

Cette morphologie microscopique est évidemment très comparable à celle du bacille de Pfeiffer mais nous avons déjà dit pourquoi il était impossible, à notre avis, de confondre les deux germes sur les plaques de milieu de Bordet.

D'ailleurs *le repiquage* des colonies douteuses fournira des précisions nouvelles.

Madsen conseille, lorsque l'examen macroscopique ou microscopique des colonies apparues sur les plaques ensemencées par la toux ne présente pas un aspect suffisamment caractéristique pour permettre un diagnostic sûr, de les réensemencer sur une nouvelle plaque inoculée avec une culture témoin de bacille de coqueluche. Les aspects macroscopiques des deux cultures sont : ou identiques et la culture peut être nettement diagnostiquée comme coqueluche ; ou manifestement différents et il ne s'agit pas de coqueluche. D'après l'expérience de Madsen, « dans tous les cas où une culture pure faite sur la gélose au sang, présentait le même aspect que celle du bacille de la coqueluche, les recherches ultérieures ont toujours prouvé qu'il s'agissait bien de ce microbe ».

Lawson identifie rapidement les colonies de bacilles de Bordet-Gengou, en les repiquant sur trois milieux : milieu de Bordet, milieu chocolat, gélose ordinaire. Si un bacille de morphologie semblable à celle du bacille de Bordet-Gengou ne pousse que sur le milieu de Bordet, il s'agit bien d'un bacille de la coqueluche. Le bacille

de Pfeiffer en effet, pousse dès le premier repiquage sur le milieu chocolat (sang cuit).

Enfin, les colonies de bacilles de coqueluche, isolées sur milieu de Bordet sont répiquées sur des tubes inclinés de gélose ordinaire au sang de cheval (1 pour 3) et en 48 heures on obtient une mince strie blanche qui s'épaissit par la suite. La culture d'abord humide, devient au bout de quelques jours muqueuse et finit par adhérer fortement à la surface du milieu.

Dès le deuxième passage et à condition que l'ensemencement soit assez abondant, il est possible d'obtenir une culture du microbe de la coqueluche sur des milieux privés de sang, par exemple, sur gélose-ascite. Mais cette culture se fait très lentement ; il faut de 4 à 7 jours pour observer une végétation nette. Après un entraînement progressif et quelques passages sur milieu au sang, la culture sur gélose ascite sera très facile et beaucoup plus rapide (2 jours) donnant une couche blanche, jaunâtre, d'aspect gras et humide, opaque et devenant « aussi épaisse qu'une colonie de bacilles typhiques sur gélose ordinaire » (Bordet).

Ainsi la possibilité de pousser sur milieux privés d'hémoglobine est un des caractères qui différencie encore, et le plus nettement, le bacille de la coqueluche du bacille de Pfeiffer.

On peut également identifier les colonies de bacilles de Bordet-Gengou, en pratiquant une agglutination rapide sur lame.

La colonie est émulsionnée dans la solution physiologique et mélangée à une goutte d'immun-sérum diluée

au 1/100 ou au 1/200; l'agglutination est vérifiée au microscope.

Résultats de l'ensemencement de la toux dans la coqueluche.

Nous exposerons d'abord nos résultats personnels. Nous nous excusons de la modestie de nos chiffres qui ne se comptent encore que par dizaines. On en conçoit facilement les raisons puisque nous nous sommes intéressés à cette étude depuis un an seulement. De plus, nous ne disposions pas d'un service hospitalier de coqueluche où nous aurions pu poursuivre nos recherches d'une façon régulière. Nous avons donc recruté nos malades de façons assez diverses.

La plupart des coqueluches ensemencées après l'apparition des quintes étaient hospitalisées soit au Bastion 29, soit dans le service des douteux de l'hôpital des Enfants-Malades, soit dans le service temporaire de la coqueluche qui a été ouvert pendant quelques semaines en 1927, à l'hôpital des Enfants-Malades. Nous tenons à remercier ici, M. Auclair, médecin du Bastion 29 et nos maîtres MM. Aviragnet et Cathala, médecins de l'Hôpital des Enfants-Malades, qui nous ont ouvert si largement leur service. Les observations les plus intéressantes, qui concernent les coquelucheux à la période catarrale, ont été recueillies, pour la plupart, à domicile.

Nous avons procédé à 77 ensemencements ; les résultats furent les suivants :

Sur 16 cas de coqueluche à la période catarrale, 14 furent + soit plus de 80 %.

Sur 22 cas de coqueluche à la première semaine des quintes, 12 furent +.

Sur 4 cas de coqueluche à la deuxième semaine des quintes, 2 furent +.

Sur 6 cas de coqueluche au 3e, 4e et 5e semaine des quintes, nous n'avons pas obtenu une seule culture positive.

Dans 3 cas, nous avons pu reconnaître avec certitude une coqueluche fruste, atypique, n'ayant jamais présenté de quintes. L'un de ces sujets, était le frère d'un coquelucheux vivant en contact avec ce dernier.

Enfin dans 28 cas, nous n'avons pas constaté la présence du bacille de Bordet-Gengou.

1° Dans 22 de ces cas, l'évolution ultérieure a bien montré qu'il ne s'agissait pas de coqueluche. Parmi ces derniers, 4 concernaient des adultes présentant une toux spasmodique sans quinte typique pouvant faire suspecter une coqueluche fruste ; il s'agissait vraisemblablement de trachéite spasmodique grippale ; 5 concernaient des sujets vivant dans l'entourage des coquelucheux et nous les avons ensemencés pour savoir s'ils n'étaient pas porteurs de germes.

2° Dans 4 cas nous n'avons pas eu de précisions suffisantes ultérieurement pour affirmer que les malades n'ont pas présenté de quintes à un moment donné.

3° Dans 2 cas qui ont trait à des nourrissons coquelucheux de quelques semaines, l'ensemencement n'a pas été pratiqué correctement. La seule plaque ense-

mencée fut complètement envahie en 48 heures par les saprophytes des premières voies : nous estimons dans ces conditions ne pas devoir les compter au passif de la méthode.

Nous exposerons maintenant les résultats des auteurs étrangers qui portent sur des centaines ou des milliers de cas.

Le professeur Madsen a rapporté en 1921, les statistiques de Meyer et Chievitz.

De février 1916 à septembre 1920, 1665 échantillons ont été ensemencés par la méthode de la toux.

970 résultats furent positifs, 559 négatifs, 45 douteux, 50 inutilisables (par envahissement du milieu par les saprophytes) et 41 sans données permettant l'examen.

Sur 134 cas de coqueluche à la période catarrale, 100 furent positifs soit 75 %.

Sur 277 cas de coqueluche à la première semaine des quintes 158 + soit 57 %.

Sur 201 cas de coqueluche à la deuxième semaine des quintes 122 + soit 61 %.

Sur 121 cas de coqueluche à la troisième semaine des quintes 55 + soit 45 %.

Sur 74 cas de coqueluche à la quatrième semaine des quintes 30 + soit 40,5 %.

Sur 107 cas de coqueluche à la cinquième semaine des quintes et au delà, 10 + soit 9 %.

Tous les cas négatifs montrèrent par l'évolution ultérieure de l'affection que le diagnostic de coqueluche devait en effet être éliminé.

Cette méthode si précieuse s'est généralisée rapidement au Danemark, grâce à la création de la station de diagnostic bactériologique de la coqueluche que dirigent Meyer et Chievitz. Le nombre des ensemencements pratiqués chaque année est évidemment variable comme les fluctuations épidémiques, mais néanmoins imposant; les chiffres ont atteint en 1922, 1694 ensemencements; en 1923, 1060 ; en 1924, 482 ; en 1925, 831 ; en 1926, 1652.

Récemment Lawson et Müller ont rapporté les résultats qu'ils avaient obtenus à la clinique de la coqueluche de Boston. Ils ont pratiqué 1115 ensemencements. 259 fois ils ont constaté la présence du bacille de Bordet Gengou. Dans 533 cas il s'agissait de coqueluche certaine : ils obtinrent 219 résultats positifs.

Donc dans 30 cas de résultats positifs, il ne s'agissait pas de coqueluche typique, avec quinte. Mais, à leur avis, de coqueluches frustes à l'étude desquelles nous consacrons le chapitre suivant.

LES COQUELUCHES FRUSTES ET LES RÉCIDIVES DE COQUELUCHE

Nous rappellerons simplement les caractères cliniques des coqueluches frustes et atypiques, précisés par MM. Robert Debré et Dansac, nous réservant d'insister sur l'intérêt de leur diagnostic bactériologique.

Les coqueluches frustes ou coqueluchettes de Roger sont des coqueluches qui ne présentent pendant toute leur évolution que les symptômes de la période d'invasion de la coqueluche : rhume prolongé, ou au maximum rhino bronchite, avec toux banale, sans température, sans vomissement, sans rejet de mucosités.

Les coqueluches atypiques ou larvées prennent le masque d'un coryza spasmodique avec éternuement en salve, d'une laryngite spasmodique réalisant la quinte gutturale de Roger, ou d'une poussée évolutive tuberculeuse (forme pseudo-tuberculeuse de Jacobson). Dans ce dernier cas, domine l'atteinte de l'état général avec amaigrissement, fièvre, anorexie, asthénie ; la toux est fréquente mais banale. Il est plus intéressant de préciser chez quels sujets, dans quelles conditions et avec quelle fréquence on observe ces modalités spéciales de la maladie.

L'étude épidémiologique démontre que l'on observe ces formes frustes avec une grande fréquence chez l'enfant en période d'épidémie de coqueluche. Elle démontre aussi que les parents, les grands-parents de coquelucheux présentent souvent, pendant la coqueluche de l'enfant, un coryza prolongé avec toux : c'est le type clinique le plus fréquent des coqueluches familiales.

Les récidives de coqueluche empruntent habituellement cette symptomatologie. La grande fréquence de ces récidives, sur laquelle insiste dans son enseignement, notre maître, M. Robert Debré, a été confirmée par Madsen qui en a observé de nombreux exemples aux îles Feroe : « Parmi les adultes qui avaient déjà eu la maladie, un grand nombre de personnes ont eu, au moment de l'épidémie, des accès de toux qui, toutefois, n'étaient pas caractéristiques. » Lawson et Müller ont isolé le bacille de Bordet-Gengou en ensemençant la toux de 5 mères qui avaient eu antérieurement la coqueluche ; elles présentaient une toux banale avec coryza et vivaient avec leur enfant atteint de coqueluche. Nous ferons remarquer que dans de semblables conditions, il pourrait y avoir confusion, ces sujets étant considérés comme des porteurs de germes alors qu'en réalité, ils sont atteints de récidive de coqueluche.

Ces formes frustes de la maladie demeurent le plus souvent insoupçonnées. On conçoit donc leur rôle, peut-être prépondérant, dans la dissémination de la maladie. C'est pourquoi leur dépistage bactériologique précoce est particulièrement indiqué. Nous en avons découvert trois. Dans un cas l'enfant a toussé pendant trois semaines sans avoir jamais présenté de quintes typiques. Le diagnostic fut fait le 10e jour par l'ensemencement de la toux. Le second cas concernait le frère d'un coquelucheux qui a présenté pendant un mois une toux simple, sans quintes, sans reprise et sans expectoration. Ces deux cultures furent luxuriantes. Notre troisième cas de coqueluche fruste fut découvert chez un enfant de 5 ans. L'ensemencement de la toux fut positif

11 jours après le début de la maladie. Cette dernière fut caractérisée par une toux rauque, fréquente la nuit ; les secousses de toux, ont conservé pendant l'évolution de la coqueluche, ce même caractère de quinte *gutturale* ; il eut été impossible, sans l'examen bactériologique d'affirmer dans ce cas le diagnostic de coqueluche.

Lawson et Müller ont dépisté bactériologiquement, 30 coqueluches frustes. L'un de ces cas a trait à une récidive de coqueluche dont la première atteinte s'était manifestée 30 ans auparavant.

La sanction prophylactique du diagnostic bactériologique fut particulièrement précieuse dans deux cas de Meyer et Chievitz ; l'un, a trait à un instituteur du Jutland qui contaminait tous ses élèves et l'autre, à un médecin de l'hôpital d'enfants, qui ne comprenait pas l'étiologie des cas de contagion intérieure de son hôpital.

Quand la toux persiste depuis plus de trois semaines, il est possible que l'ensemencement des plaques reste négatif. On peut alors caractériser les coqueluches frustes par la réaction de déviation du complément. Cette méthode a permis à Delcourt, dès 1911, lors de l'épidémie de Saint-Job, de démasquer les coqueluches frustes « qui sont beaucoup plus nombreuses qu'on le croit généralement aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte ». Il démontra même par cette méthode, que la source de l'épidémie était une maîtressse de solfège qui enseignait dans trois écoles de la même commune.

Il importe donc d'user largement de la méthode d'ensemencement de la toux, en période épidémique de coqueluche, de façon à dépister toutes ces formes anormales et prendre les mesures prophylactiques utiles.

RECHERCHES SUR L'AGGLUTINATION DU BACILLE DE LA COQUELUCHE

L'identification du bacille de Bordet-Gengou doit être poursuivie par la recherche de l'agglutination du germe, à l'aide des sérums expérimentaux et accessoirement, des sérums de convalescents. On sait, en effet, que l'agglutinine est inconstante ou peu abondante dans le sérum des convalescents de coqueluche. La plupart des réactions positives ne dépassent pas le 1/50. Par conséquent si l'agglutinine coquelucheuse existe assez souvent dans le sérum des convalescents de coqueluche après la 3e semaine, elle n'est jamais suffisamment abondante pour fournir un taux agglutinatif bien remarquable. C'est pourquoi on prépare des sérums expérimentaux agglutinant le bacille de la coqueluche à des taux variables, le moins élevé étant le 1/500.

Bordet et Gengou ont préparé, les premiers, par immunisation du cheval, un sérum agglutinant au 1/5000. Meyer et Chievitz ont réussi, après bien des déboires disent ces auteurs, à obtenir une immun sérum fortement agglutinant (1/5000).

Mais le plus important travail original sur l'agglutination du bacille de Bordet a été publié par Krumwiede, Mishulow et Oldenbuch, en 1923. Le point de départ des

observations de ces auteurs, fut le fait suivant : un sérum expérimental préparé avec une souche nouvellement isolée ne provoqua qu'une légère agglutination (1/100) des souches anciennes alors que les autres souches nouvellement isolées étaient agglutinées au même taux que la souche ayant servi à préparer le sérum.

Ils ont alors étudié différentes souches américaines de bacilles de Bordet-Gengou, par agglutinations comparatives avec et sans absorption des agglutinines. Ils employèrent deux immuns sérums : le sérum de Bordet, et le sérum préparé avec la nouvelle souche A 253. Ils concluent de leurs recherches à la présence à New-York de deux types A et B de bacille de la coqueluche. L'immun sérum B agglutine les souches du groupe B et légèrement ou pas du tout, les souches du groupe A. Par contre l'immun sérum A agglutine non seulement les souches A mais également les souches B à un taux élevé.

Nous-mêmes au cours de nos recherches, avons vérifié l'agglutination de treize souches avec les sérums suivants :

1° Un sérum expérimental américain (1) (lapin) agglutinant le bacille de coqueluche B. (Exp. B.).

2° Un sérum expérimental américain (lapin) agglutinant le bacille de coqueluche A. (Exp. A.)

1. Nous devons les échantillons de sérum agglutinant A et B et les souches américaines témoins à l'obligeance des professeurs Hans Zinsser, de Boston et William H. Park, de New-York. Le sérum thérapeutique nous a été aimablement fourni par l'Institut Pasteur de Brabant.

3° Deux échantillons de sérum thérapeutique de Bordet (Th. Bordet I et II).

4° Deux sérums agglutinants personnels préparés avec deux de nos cultures (Exp. BI et Exp. R.).

Nous indiquerons d'abord la technique que nous avons suivie pour la préparation des immuns sérums.

Préparation d'un immun sérum.

La préparation d'un sérum agglutinant fortement le bacille de Bordet ne présente pas de grandes difficultés. Nous avons obtenu deux sérums expérimentaux par injection au lapin d'émulsions microbiennes provenant de culture sur gélose au sang de lapin. Nous avons employé uniquement la voie intraveineuse.

Le nombre des injections nécessaires était de 20 environ par série de 5 injections, une chaque jour, chaque série étant séparée de la suivante par 4 ou 5 jours de repos.

1re série : 0 cc.5 à 2 cc. d'une émulsion chauffée à 50° de 2 milliards de germes.

2e série : 1 cc.5 à 3 cc. d'une émulsion chauffée à 50° de 2 milliards de germes.

3e série : 0 cc. 5 à 3 cc. d'une émulsion de 2 milliards de germes vivants.

4e série : 3 cc. d'une émulsion de plus en plus concentrée de germes vivants. Les dernières injections représentent, émulsionné dans 3 cc. d'eau physiologique, le produit du raclage de 1 et 2 tubes inclinés de culture.

Les injections doivent être faites strictement intravei-

neuses, en évitant le passage de l'émulsion dans le tissu sous-cutané, si l'on veut se garantir contre une infiltration qui rend les veines inaccessibles pour les injections suivantes.

Milieu chocolat.

Nous donnons également ici la composition du « Chocolat Agar », employé par les auteurs américains pour les cultures de bacille de la coqueluche devant être utilisées pour la préparation des immuns sérums ; c'est, au fond, une gélose au sang cuit.

A 500 centimètres cubes de gélose fondue et refroidie à 42°-45° on ajoute 5 % de sang de cheval défibriné stérile. Ce milieu est alors chauffé à petit feu jusqu'à ce qu'il ait une couleur rouge foncé, brune ; on le coule ensuite en boîte de Pétri ou boîte de Roux. Sur ce milieu, le premier repiquage du bacille de Bordet-Gengou ne réussit pas ; il faut y aclimater le germe, en mélangeant le milieu chocolat par doses croissantes au milieu de Bordet.

Technique de l'agglutination.

Nous employons des émulsions bactériennes en eau physiologique (2 milliards de germes environ par cc.) préparées par raclage de cultures de 48 heures sur gélose au sang, légèrement formolées et employées après 24 heures de repos à la glacière.

Nous laissons 3 heures à l'étuve à 37°, puis 4 à 6 heures à la température du laboratoire les mélanges

d'émulsion microbienne et de sérum dilué en proportions convenables, pour obtenir des taux variant de 1/100 à 1/4000. Nous notons ensuite :

+++ Une agglutination forte avec sédimentation complète.

++ Une agglutination appréciable macroscopiquement avec sédimentation partielle.

+ Une agglutination nette visible seulement à l'examen microscopique.

L'absence complète d'agglutination dans les témoins sans sérum était contrôlée au microscope.

Résultats :

Ils sont consignés dans le tableau suivant:

Souches	Exp. A	Exp. B	Th. Bordet$_{I}$	Th. Bordet$_{II}$	Exp. B$_1$	Exp. R
D	0	500++	0	0	500++	2.000++
Ch	0	500++	0	0	2.000++	2.000++
K	0	350++	0	0	1 500++	2.000+
P	0	500++	0	0	2.000++	1.000++
B^1	0	100++	0	0	2.000++	2.000++
Co	0	1.000++	0	0	2.000++	2.000+
S	0	350++	1.500+++	1.500+++	4.000+++	1.000+++
N. C	0	1.000++	0	0	1.000++	1.000+
R	0	1.000++	0	0	2.000++	2.000++
B^2	0	500 +	1.500++	1.500++	500++	1.000+
A. 253	1.000+	0	0	0	0	0
H. F.	0	1.500+	3.000++		2.000+	
H. S.	0	500+	3.000++		2.000+	
Leg.	0	2.000++	2.000++		2.000++	

Ces résultats appellent un certain nombre de remarques. Pas une seule de nos souches a été agglutinée par le sérum A américain. La souche A américaine qui nous servait de témoin a été nettement agglutinée au

millième. Nous pouvons donc conclure que jusqu'ici nous n'avons pas encore rencontré de bacille de la coqueluche rentrant dans le groupe A des Américains.

Nous n'avons pas eu à employer la méthode de saturation des agglutinines puisque contrairement aux américains, nous n'avons pas constaté d'agglutinations mixtes avec leur sérum. Le sérum B américain (Zinsser) a agglutiné toutes nos souches, une au 1/2000, 4 au 1/1500, 3 au 1/1000, 5 au 1/500, 2 au 1/350 et une seulement au 1/100 (souche B^1). Estimant le taux agglutinatif de cette souche très faible, nous avons préparé avec elle un immum sérum (Exp. B^1). Ce sérum agglutine la souche B^1 au 1/2000 et toutes nos autres souches à un taux élevé, la plupart au 1/2000. De même notre second immum sérum (Exp. R) agglutina toutes nos cultures, la plupart au 1/2000. — Par conséquent toutes nos souches de bacilles de Bordet-Gengou présentent vis-à-vis de nos immums sérums une certaine fixité et forment un bloc homogène. Comme, par ailleurs, toutes nos souches ont été agglutinées, la plupart à un taux notable, par le sérum B américain, nous sommes fondés à conclure que jusqu'ici toutes nos souches appartiennent au type B de bacille de la coqueluche.

Nous ferons d'ailleurs remarquer que la race A n'a été observée jusqu'ici que par Krumwiede et ses collaborateurs, à New-York. Zinsser à Boston n'a rencontré que des bacilles du type B. Kristensen a montré l'homogénéité du bacille de Bordet-Gengou à Copenhague et la présence d'un seul type immunologique de ce bacille.

Les résultats des agglutinations avec le sérum thérapeutique de Bordet sont singuliers. Dans une première épreuve avec l'échantillon I de sérum de Bordet, nous avons obtenu, avec dix de nos souches, deux agglutinations positives seulement (au 1/1500e). Notons que la plupart de ces souches étaient repiquées depuis plusieurs mois. Répétant l'expérience avec un autre échantillon (II) du sérum de Bordet, nous avons retrouvé exactement les mêmes faits. Enfin nous avons isolé récemment 3 souches nouvelles de Bacilles de Bordet-Gengon et avons recherché leur taux d'agglutination avec le sérum thérapeutique du savant belge. Nous avons alors obtenu 3 fortes agglutinations, 2 au 1/3000 et une au 1/2000. Par ailleurs, ces 3 nouvelles souches se sont comportées vis-à-vis des immuns sérums américains et des nôtres, comme les dix autres souches que nous avons étudiées. On sait depuis le travail de Bordet et Slewsky, l'influence du vieillissement des cultures et des milieux ayant servi à la préparation soit de l'immun sérum, soit de l'antigène, mais nous nous contenterons, pour l'instant, de constater les faits, sans chercher à résoudre ces paradoxes de l'agglutination.

Agglutination du bacille de Bordet-Gengou avec le sérum de convalescent de coqueluche.

Cette recherche ne présente que peu d'intérêt. Bordet-Gengou, déjà, étaient assez réservés sur ce point, une agglutination peu considérable pouvait avoir lieu,

mais manquait souvent. Chiévitz et Meyer ont montré que le plus habituellement l'agglutination était négative. Giése conclut de ses nombreuses recherches :

1° L'agglutination du bacille Bordet avec le sérum de convalescent de coqueluche n'est pas un phénomène constant ;

2° L'agglutination a lieu aussi souvent dans les cas compliqués que dans les cas non compliqués ;

3° Le sérum agglutine les échantillons de bacille de Pfeiffer, isolées de l'expectoration coquelucheuse dans un grand nombre de cas de coqueluche compliqués d'affections des poumons, rarement dans les cas non compliqués.

Nous même avons pratiqué quelques agglutinations avec le sérum de convalescent de coqueluche. Sans doute cette méthode ne joue pas de rôle pratique dans le laboratoire de la coqueluche. Mais elle nous a permis de contribuer à affirmer l'authenticité des premières souches que nous avons isolées au début de nos recherches. Six sérums de convalescents, prélevés à la 3e et 4e semaines, ont été spécialement étudiés.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Sérum I	agglutination	+ au 1/200
Sérum II	—	1/300
Sérum III	—	0
Sérum IV	—	1/50
Sérum V	—	0
Sérum VI	—	1/30

Ces constatations — inconstance de la réaction, faible taux de l'agglutination — confirment le peu de valeur de cette méthode pour le diagnostic tardif de la coqueluche.

LA RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT DANS LA COQUELUCHE

Dans leur communication princeps, Bordet et Gengou affirmèrent que le sérum de convalescent de coqueluche additionné d'une émulsion du bacille qu'ils avaient découvert, présentait la propriété de fixer l'alexine. A part quelques rares discordances, la plupart des auteurs qui ont étudié cette question n'ont fait que confirmer les faits énoncés par Bordet-Gengou et préciser la date d'apparition des anticorps dans le sérum des coquelucheux.

Porcelli (1913) trouve la réaction positive 15 fois sur 16 et confirme l'absence totale d'action du sérum coquelucheux sur les bacilles de Pfeiffer et Czaplewski.

Netter et Mathieu P. Weill (1913) précisent que la réaction apparaît à la fin du deuxième septenaire. Lors de la 3e semaine des quintes, et *a fortiori* lors de la défervescence et de la convalescence, la réaction est presque toujours positive. Mathieu Weill montre également que la sensibilisatrice peut persister des années. Il constate l'absence de sensibilisatrice chez les rougeoleux atteints de coqueluche depuis 3 à 5 semaines et rapproche ce

fait de l'anergie morbilleuse à la tuberculine. Giése n'a cependant pas confirmé ces faits et pour cet auteur la rougeole n'exerce aucune action sur la réaction de fixation de la coqueluche.

Renaux (1914), montre l'intérêt de la réaction pour le diagnostic des formes anormales. Chiévitz et Meyer, Winholt, Miriam Olmstead et Olga-Povitzky (1915-16), Giése (1918), obtiennent des réactions constamment positives avec le bacille Bordet, toujours négatives avec les bacilles du type Pfeiffer.

En somme, la plupart des auteurs ayant étudié la réaction de déviation dans la coqueluche, en se servant comme antigène d'une émulsion de bacilles de Bordet-Gengou, démontrent la constance des propriétés spécifiques du sérum de convalescent de coqueluche vis-à-vis de ce bacille et l'absence de toute propriété semblable vis-à-vis des autres microbes décrits par Jochmann et Krause, Spengler, Czaplewski, etc.

Nous n'avons donc pas eu l'intention, au cours de nos recherches, de pratiquer sur un grand nombre de cas, la réaction de déviation du complément. Sa technique, sa valeur, son intérêt ont été parfaitement précisés par Bordet, Netter, Giése, etc. Nous avons simplement voulu vérifier, une fois de plus et par une autre méthode l'authenticité de quelques-unes des souches de bacille de la coqueluche que nous avons recueillis à Paris, par l'ensemencement de la toux. Nous en rapporterons succinctement les résultats.

Technique et résultats de la réaction de déviation du complément.

La recherche a été effectuée sur le sérum provenant de 6 malades atteints de coqueluche depuis 4 à 5 semaines.

Comme témoins, nous avons utilisé :

1° Un sérum expérimental de lapin agglutinant fortement le bacille de Bordet ;

2° Trois sérums provenant de malades exempts de coqueluche.

Tous ces sérums sont inactivés par chauffage à 56° pendant 30 minutes.

La technique utilisée est la technique même de Bordet.

L'antigène est constitué par une émulsion de bacilles de Bordet d'une concentration de 2 milliards par cc. environ. L'émulsion a été préparée le jour même de l'épreuve, les microbes prélevés par raclage de cultures sur gélose-sang âgées de 48 heures provenant de 3 souches différentes.

La concentration voulue est facilement obtenue (Giése) par comparaison avec une dilution de lait à 1/200. Le système hémolytique est constitué par les hématies lavées de mouton et le sérum de lapin anti-mouton. L'expérience comprend 3 épreuves préliminaires indispensables :

1° Le titrage de l'alexine ;

2° Le titrage du pouvoir empêchant de l'antigène ;

3° Le titrage du sérum hémolytique.

Dans l'expérience définitive on emploie la dose minima d'alexine ayant déterminé l'hémolyse totale.

Cette dose varie dans les tubes à antigène et dans les tubes témoins sans antigène, suivant le pouvoir empêchant de l'antigène (ce pouvoir empêchant est représenté en général par 0,005 ou 0,01 d'alexine).

Pour constituer le système hémolytique, on emploie les hématies de mouton à 5 % et le sérum hémolytique à une dose double de celle déterminée par son titrage.

Suivant la technique de Bordet-Gengou le temps de fixation est de 4 heures à la température du laboratoire, le temps d'hémolyse 2 heures à 37°.

Le degré d'hémolyse est traduit, d'après la teinte des tubes centrifugés, par les chiffres de l'échelle de Boas (100 correspondant à l'hémolyse totale).

Epreuves préliminaires

I. — *Titrage de l'Alexine.*

Tubes :	1	2	3	4	5
Alexine (au 1/10 c)	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35
Eau physiol. (9 0/00)	1,65	1,6	1,55	1,5	1,45
4 heures à 22°.					
Sérum hémolytique (1 p. 150)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Hématies (5 0/0)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
1 heure à 37°.					
Hémolyse	30	100	100	100	100

II. — *Titrage du pouvoir anticomplémentaire de l'Antigène.*

Tubes :	1	2	3	4	5	6
Antigène	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Alexine	0,25	0,3	0,35	0,3	0,45	0,5
Eau physiol.	1,35	1,3	1,25	1,2	1,15	1,1
4 heures, à 22°.						
Sérum hémolyt. 1/150	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Hématies	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
1 heure à 37°.						
Hémolyse	0	100	100	100	100	100

III. — *Titrage du sérum hémolytique.*

Tubes :	1	2	3	4
Alexine 1/10	0,5	0,5	0,5	0,5
Eau physiologique	1,5	1,45	1,4	1,35
Sérum hémolytique 1/300	0,025	0,05	0,1	0,15
Hématies	0,5	0,5	0,5	0,5
1 heure à 37°.				
Hémolyse	30	100	100	100

IV. — *Expérience définitive.*

Tubes	Sérum inactivé	Antigène	Alexine 1/10	Eau phys.	Sérum hémol. 1/300	Hématies	Hémolyse
1	0,2 (I)	0,2	0,3	1,2	0,1	0,5	40
2	0,2 (II)	0,2	0,3	1,2	0,1	0,5	60
3	0,2 (III)	0,2	0,3	1,2	0,1	0,5	10
4	0,2 (IV)	0,2	0,3	1,2	0,1	0,5	80
5	0,2 (V)	0,2	0,3	1,2	0,1	0,5	70
6	0,2 (VI)	0,2	0,3	1,2	0,1	0,5	20
7	0,2 (Expér.)	0,2	0,3	1,2	0,1	0,5	0
8 à 10	0,2 (T. nég.)	0,2	0,3	1,2	0,1	0,5	100
11 à 20	0,2(I à VI.Exp.						
21	T. nég.)	—	0,2	1,3	0,1	0,5	100
22	—	—	0,2	1,7	0,1	0,5	100
	—	0,2	0,3	1,4	0,1	0,5	100

(4 heures à 22° ; 2 heures à 37)

Résultats :

Tubes 1 à 6 : Sérum à expérimenter (coquelucheux à la 4e et 5e semaine), I, II, III, IV, V, VI.
Tube 7 : Sérum expérimental (lapin).
Tubes 8 à 10 : Sérums témoins négatifs provenant de sujets exempts de coqueluche.
Tubes 11 à 20 : Tubes témoins sans antigène.
Tube 21 : Tube témoin sans antigène ni sérum.
Tube 22 : Tube témoin avec antigène sans sérum.
Conclusion. — Fortement positif : III, VI.
Positif : I, II
Faiblement positif : IV, V.

Ainsi, l'émulsion de bacilles provenant de nos cultures s'est comportée, vis-à-vis du sérum de coquelucheux, comme une émulsion de bacilles spécifiques. C'est une certitude de plus en faveur de l'authenticité de nos souches et c'est tout ce que nous voulions demander à la réaction de déviation du complément dans la coqueluche.

PROPHYLAXIE DE LA COQUELUCHE

La prophylaxie de la coqueluche doit viser, idéalement :

1° A tarir la source de contagion par l'isolement du sujet atteint de forme normale ou atypique de la maladie.

2° A arrêter l'évolution de la maladie chez le suspect de contagion.

1° Isolement du coquelucheux.

Pour rendre cet isolement opérant et rationnel il importe d'abord de préciser les délais de la contagion de la coqueluche. La période contagieuse dure environ un mois. Elle commence dès le premier jour de l'invasion, et pendant toute la durée de cette période dite catarrale, la maladie est éminemment contagieuse. Elle le demeure encore pendant les quinze premiers jours des quintes. Puis la puissance de contagion décroît ensuite très vite et la plupart des auteurs s'accordent pour admettre qu'après la 4e semaine des quintes, la contagion est exceptionnelle. Ces données, basées sur l'expérience et les recherches épidémiologiques sont confirmées, en partie, par l'étude bactériologique. Cette

derniere montre, en effet, que le microbe de Bordet-Gengou est présent en grande abondance dans les particules extrêmement fines qui sont projetées par la toux avant la période des quintes. Il y a donc autour d'un coquelucheux, pendant la période catarrale, une atmosphère très riche en bacilles de Bordet-Gengou, et qui, respirée par un sujet non immunisé s'avère capable de déterminer la contagion.

L'étude bactériologique montre encore que le bacille de la coqueluche peut être décelé :

Pendant la première semaine des quintes, dans 57 % des cas ;

Pendant la deuxième semaine des quintes, dans 61 % des cas ;

Pendant la troisième semaine des quintes, dans 45 % des cas ;

Pendant la quatrième semaine des quintes, dans 40 % des cas ;

Pendant la cinquième et au delà, dans 9 % des cas.

Donc à s'en tenir aux seuls résultats bactériologiques, il y a quelque discordance entre la présence du microbe spécifique pendant la 5e semaine et au delà, et la non-contagiosité de la maladie à cette phase de son évolution. Mais il faut se souvenir que si la présence du bacille est la condition nécessaire, l'expérience montre qu'elle n'est pas la condition suffisante pour déterminer la contagion. Peut-être faut-il faire intervenir une question de densité microbienne, de virulence variable ou autre : peu importe, car si intéressants d'ail-

leurs que soient ces problèmes, ils font partie du domaine des hypothèses et il nous suffit pour l'instant de connaître la certitude : ce sont les faits qui nous la donnent.

En effet, au début de leurs recherches, Meyer et Chievitz, se basant sur l'extrême rareté des cultures positives après la 4e semaine, pensaient que la courbe de disparition du bacille se rapprochait de l'hyperbole. L'opinion de la non-contagiosité de la maladie après cette date se trouvait donc étayée par une constatation bactériologique qu'ils croyaient certaine. Aussi, dès 1916, le ministre de l'Instruction publique danoise sanctionna les conclusions de Meyer et Chievitz et autorisa la présence dans les écoles, des coquelucheux à la 5e semaine des quintes et au delà. Or, depuis 1916, où furent appliquées les prescriptions officielles, Meyer et Chievitz n'ont jamais observé un seul cas de contagion dans les écoles où vivaient ensemble les enfants n'ayant jamais eu la coqueluche et les coquelucheux arrivés à la 5e semaine de leur maladie. Cette expérience est donc décisive. Cependant, en France, la loi en vigueur actuellement, ordonne après la fin des quintes une quarantaine de 30 jours (arrêté ministériel du 5 février 1912).

De ces diverses considérations il apparaît donc que pour réaliser une prophylaxie rationnelle, il faut arriver à isoler le coquelucheux le plus rapidement possible, dès les premiers jours de la période catarrale. Cela revient à dire qu'il faut savoir reconnaître la coqueluche dès cette période, où la symptomatologie

est si banale et la carence clinique totale. Or, grâce au diagnostic bactériologique précoce, nous avons le moyen de reconnaître avec certitude la maladie, et de justifier l'isolement du petit malade. On ne peut pas, en effet, faire systématiquement l'isolement de tout l'enfant qui tousse et semble présenter une rhinotrachéite ou une bronchite. Cet isolement systématique serait abusif et d'ailleurs refusé par la plupart des parents à cause de sa durée. Par contre on acceptera très volontiers de garder un enfant pendant 3 jours à la chambre si on suspecte un début de coqueluche et si on est capable d'affirmer, après ce temps, la réalité de la maladie. Les parents comprendront alors l'utilité de l'isolement pendant les jours qui précéderont l'apparition des quintes.

Il importe donc de généraliser cette méthode de diagnostic si précieuse qu'est l'ensemencement de la toux.

Cette généralisation permettra également de reconnaître de plus en plus fréquemment les formes anormales de la maladie qui prennent le masque d'un rhume prolongé, d'une laryngite spasmodique, etc., et qui demeurent le plus souvent insoupçonnées. Ce sont cependant ces modalités de la maladie qui sont les plus capables de disséminer la contagion, puisqu'elles sont habituellement ambulatoires. Il n'est pas douteux que les médecins, sachant qu'ils ont à leur disposition une méthode simple et de valeur absolue quand elle fournit un résultat positif, n'hésiteront pas à pratiquer l'ensemencement de la toux, en présence d'une affection pul-

monaire indéterminée dont la durée cadre mal avec l'apparente bénignité. Jusqu'ici le problème prophylactique de la coqueluche reste bien limité au coquelucheux. Nous n'avons jamais dépisté, pas plus que les auteurs danois, de porteurs de germes de coqueluche dans l'entourage des malades.

Préconisant la généralisation du diagnostic précoce de la coqueluche, nous ferions œuvre incomplète si nous n'exposions pas les moyens de la réaliser. Le problème est d'ailleurs déjà résolu au Danemarck depuis 1916. Il faudrait créer des stations de diagnostic bactériologique et de prophylaxie de la coqueluche. Dans cette station, les milieux seraient préparés en quantité suffisante pour satisfaire à toutes les demandes. Les boîtes métalliques seraient à la disposition des médecins, et pourraient être expédiées par la poste, ensemencées et retournées au laboratoire. Il est indispensable que l'examen des boîtes soit confié à un bactériologiste ayant l'expérience de la méthode. Les souches seraient repiquées régulièrement et serviraient à préparer le vaccin ou le sérum thérapeutique. Elles permettraient également de pratiquer des recherches sur les réactions sérologiques de la coqueluche et l'étude biologique du bacille de Bordet et de l'organisme coquelucheux. Le vaccin ou le sérum serait à la disposition des médecins pour la prévention ou la thérapeutique de la maladie.

Les charges que nécessiterait le fonctionnement de semblables stations seraient certainement remboursées, au delà, par la conservation d'un certain nombre de vies

humaines, par la diminution du nombre des séquelles qui s'observent à la suite des coqueluches graves ou compliquées. Il n'est peut-être pas inutile de rappeler ici le nombre de décès dus à la coqueluche en France. MM. Robert Debré et Joannon ont donné les chiffres suivants dans leur ouvrage sur la rougeole : de 1906 à 1913, on compte :

25.127	décès dus à la	coqueluche.
31.125	—	rougeole.
24.948	—	diphtérie.
9.864	—	scarlatine.

On voit que la coqueluche prend place après la rougeole dans le pourcentage des décès. L'utilité de la prophylaxie de cette maladie s'impose donc. Et on ne peut qu'admirer et envier l'effort remarquable d'un petit pays comme le Danemark où les médecins sont en liaison constante avec les pouvoirs publics, leurs recherches facilitées, leurs avis écoutés et réalisés.

Si nous cherchons maintenant à préciser dans quelles conditions se produit la contagion, on retrouve souvent le contact avec un enfant ou une personne du voisinage du malade. A ce sujet, une statistique déjà ancienne de la Whoping Cough clinic est instructive : sur 2.310 cas de coqueluche dont la source de contagion fut dépistée, on constata que 60 fois sur 100, l'enfant avait été contaminé par un coquelucheux du voisinage, 10 fois sur 100 par les visiteurs, 7 fois sur 100 seulement à l'école. Ces chiffres montrent bien la nécessité de l'isolement précoce du coquelucheux.

II. — Traitement prophylactique de la coqueluche

Nous étudierons maintenant la 2e partie du problème de la prophylaxie anticoquelucheuse : de quels moyens disposons-nous pour arrêter ou atténuer l'évolution de la maladie chez le sujet contagionné. Deux méthodes thérapeutiques peuvent être utilisées : la sérothérapie et la vaccinothérapie.

a) *La vaccinothérapie préventive de la coqueluche.*

Elle est réalisée par l'injection sous-cutanée ou intramusculaire d'un vaccin préparé avec des cultures de bacilles de B.G.

Dès 1912, Nicolle et Conor ont les premiers, étudié l'action d'un vaccin vivant constitué par une émulsion homogène de microbes de Bordet Gengou dans le sérum physiologique.

Mais ce vaccin, étant donné sa nature, était peu pratique et Nicolle et Blaizot préparèrent alors un nouveau vaccin consistant en une émulsion de microbes de Bordet-Gengou tués sans chauffage avec une solution fluorée. Depuis cette date, un grand nombre d'auteurs, ont étudié la vaccinothérapie et déclarent d'une manière générale que le traitement lorsqu'il est appliqué au début de la maladie et par doses assez fortes, a des effets bienfaisants. Ce n'est pas, cependant, l'avis des auteurs danois qui n'ont pas constaté d'effet thérapeutique bien net quand le traitement est commencé à la période des quintes.

On dispose actuellement de vaccins spécialisés ren-

fermant habituellement trois cent millions de corps microbiens par centimètre cube. Nous avons, avec MM. Debré et Prétet, préparé un vaccin en mélangeant plusieurs de nos souches et nous l'injectons par voie sous-cutanée ou intra-musculaire à la dose de 3/4 à 1 cm³.

Préparation du vaccin.

Une culture de deux jours sur gélose sang provenant de 10 souches différentes est émulsionnée en eau physiologique pour servir à l'ensemencement de plaques de gélose ascite en boîtes de Roux. Après 3 jours d'étuve à 37°, les cultures sont reprises en émulsion dans la solution physiologique à 7 pour 1.000. Ces émulsions subissent une décantation de courte durée, puis sont étendues au titre voulu (600 millions par cc.), distribuées en ampoules et chauffées à 50° pendant 45 minutes.

Nous signalerons que nous avons pu préparer, dans deux cas, un auto-vaccin coquelucheux.

Résultats de la vaccinothérapie de la coqueluche.

Nous exposerons ultérieurement les résultats de notre expérience personnelle. Pour l'instant, nous emprunterons les résultats des auteurs danois qu'il nous paraît intéressant de signaler, étant données les conditions idéales pour l'étude de la prophylaxie aux îles Féroë.

Les îles Feroë comprennent 17 îlots habités, séparés les uns des autres par des détroits présentant de grande difficulté de navigation,ce qui aboutit pratiquement à un isolement absolu. Aussi lorsqu'une maladie contagieuse apparaît;il est presque toujours possible de déterminer la source de contagion, et de suivre la propagation de la maladie, son incubation et ses conditions d'immunité.

Les médecins des îles Feroë ont ainsi apporté une précieuse contribution à l'épidémiologie de la coqueluche. Le professeur Madsen en a fait connaître récemment les résultats et nous empruntons à son très important travail, les considérations et les chiffres qui suivent.

La coqueluche sévit dans les îles Feroë, sous forme d'épidémies très prononcées, séparées par des intervalles de 5 à 6 années entièrement exemptes de la maladie. En 1915 eut lieu l'avant-dernière épidémie avec 1.286 cas et 85 décès. L'expérience a montré qu'aux îles Feroë la coqueluche attaque pour ainsi dire tous les nourrissons, les jeunes enfants et les adultes qui n'ont pas eu la coqueluche. D'ailleurs un certain nombre de personnes ayant déjà contracté la maladie, la prennent de nouveau, mais le plus souvent, sous une forme bénigne.

On n'avait donc pas constaté de cas de coqueluche depuis 1916, quand une nouvelle épidémie grave commença à sévir en 1923. La population était alors de 22.000 habitants. On décida la vaccination préventive en masse et 2.000 vaccinations furent pratiquées. On injecta 3 fois de suite, à 2 jours d'intervalle 1/2, 3/4,

1 cc. d'un vaccin contenant 10 milliards de germes par cc.

Voici quelques résultats :

A *Voog*, 364 enfants ont été vaccinés, 1 à 3 mois avant d'être exposés à la contagion : en dépit de cette précaution tous sans exception ont contracté la coqueluche. Toutefois l'épidémie a été très bénigne. Sur les 234 cas, 3 enfants ont été atteints de broncho-pneumonie et un seul est mort. Sur 30 enfants non vaccinés, 5 broncho-pneumonies se sont déclarées et il y eut un décès.

A Eide, on a observé que l'effet du vaccin est surtout net quand la dernière injection a été faite une semaine avant le début de la toux.

Sur 251 vaccinés, 50, c'est-à-dire 20 % ont échappé à la contagion et il y eut 1 décès.

Sur 108 non vaccinés, 2 seulement ont échappé à la contagion et il y eut un décès.

A Blaksvig, sur 457 vaccinés il n'y eut aucun décès.

Sur 450 non vaccinés il y eut 11 décès.

Dans l'ensemble, sur 2.094 vaccinés on a constaté 5 décès.

Sur 627 non vaccinés on a constaté 18 décès.

Ainsi la mortalité parmi les personnes non vaccinées est 12 fois plus forte que parmi les autres.

Madsen conclut :

1° L'effet prophylactique de la vaccination n'est pas absolument net bien qu'on ne puisse nier que très souvent les cas d'infection sont plus rares parmi les personnes vaccinées que parmi les non vaccinées.

2° Il n'est pas douteux que l'infection est plus bénigne chez les sujets vaccinés que chez ceux qui ne le sont pas.

3° La vaccination est en général la plus efficace lorsqu'elle se termine une semaine avant l'invasion. Il peut exister un rapport entre ce fait et la formation des anticorps, car le maximum d'anticorps est atteint assez exactement une semaine après la dernière injection de vaccin.

Lorsque la vaccination a lieu pendant la période catarrale, elle peut encore avoir des effets bienfaisants en diminuant le nombre des quintes et la durée de la maladie. Mais le vaccin serait sans effet pendant la période des quintes.

b) *La sérothérapie de la coqueluche.*

On peut faire appel soit à un sérum thérapeutique, soit à un sérum de convalescent.

Le seul sérum thérapeutique qui peut être utilisé en France actuellement est le sérum de Bordet, préparé par immunisation du cheval. Mais il est assez difficile de s'en procurer et nous n'avons pas d'expérience personnelle sur son action tant curative que préventive. Nous avons l'intention, avec la collaboration de M. G. Ramon, de préparer prochainement avec nos souches un sérum thérapeutique.

Le sérum de convalescent de coqueluche a été préconisé par divers auteurs dans un but prophylactique ou thérapeutique. M. Robert Debré, le premier, a pré-

conisé la séro-prophylaxie par le sérum de convalescent de coqueluche. Il a précisé la date de prélèvement du sérum. Elle doit suivre l'apparition de la sensibilatrice et par conséquent ne doit pas être fixée avant la 4e semaine. Les sérums provenant de plusieurs sujets (4 à 8) sont mélangés, conservés à la glacière pendant quelques jours, pour rendre impossible malgré la réaction de Wassermann négative, toute contamination syphilitique.

Actuellement, étant donnée la pénurie du sérum de convalescent, on utilise le sérum d'adulte ayant eu jadis la coqueluche. On sait en effet que l'immunité est persistante et que la réaction de déviation peut être positive des années après la maladie.

Le moment où il faut pratiquer l'injection préventive ne peut pas être rigoureusement établi ; en effet, l'incubation de la coqueluche (6 à 15 jours) n'a pas la fixité mathématique de celle de la rougeole et d'autre part, un enfant n'ayant pas eu la coqueluche et vivant au contact de coquelucheux ne contractera pas fatalement la maladie. Aussi, de même que pour la vaccination, il faut pratiquer la séro-prophylaxie dès qu'il est possible.

Les doses à injecter sont variables suivant l'âge ; nous préconisons de :

0 à 3 ans : 5 à 10 cc.
3 à 10 ans : 10 à 15 cc.
Au-dessus de 10 ans : 15 à 20 cc. et davantage.

Les résultats peuvent être classés en 3 groupes :

1. L'injection a été faite avant la contamination ou au début de la période d'incubation : la coqueluche n'apparaît pas. C'est la séro-prévention absolue.

2° L'injection est pratiquée à la fin de la période d'incubation — la coqueluche apparaît à son heure mais très atténuée (quintes légères — maladie écourtée : 2 à 3 semaines — pas de baisse de poids) : c'est la séro-atténuation.

3° Si l'injection est faite pendant la période d'invasion la coqueluche présente son allure normale et peut être aussi grave qu'une coqueluche n'ayant pas reçu d'injection. Cependant MM. Méry, Lesné et M. Robert Debré ont signalé l'efficacité des injections de sérum de convalescent contre la broncho-pneumonie. En somme, des divers traitements prophylactiques de la coqueluche, deux sont actuellement à retenir : la vaccinothérapie et la séroprophylaxie par sérum de convalescent.

Si toutes deux ont fait leurs preuves indiscutables particulièrement pour l'atténuation de la maladie, il est vraisemblable que la préférence ira de plus en plus à la vaccinothérapie. Sa puissance créatrice d'anticorps est indiscutable et se traduit par la positivité de la réaction de déviation dont le maximum est atteint de 8 à 15 jours après la dernière injection (Martin Kristensen) ; d'autre part il est facile de préparer de grandes quantités de vaccin, et par conséquent de satisfaire immédiatement à toutes les demandes.

3° Mise en pratique de la prophylaxie de la coqueluche.

En déduction des données générales précédentes, il faudrait concevoir ainsi la prophylaxie de la coqueluche :

1° Isolement du coquelucheux le plus précocement possible après le début de la période catarrale, l'affection étant reconnue dès ce moment, grâce à l'ensemencement de la toux de tout enfant suspect vivant dans une collectivité d'enfants. Les milieux seraient à la disposition des médecins, parents, instituteurs, etc., à la station de prophylaxie de la coqueluche.

2° La durée de l'isolement s'étendra sur toute la période catarrale et sur les 4 premières semaines des quintes. Après un mois de quintes, la quarantaine sera levée et l'enfant pourra retourner en classe.

3° Les personnes, enfants comme adultes, vivants en contact intime avec un coquelucheux et non séparés seront spécialement surveillés. Dès l'apparition de la toux ils seront isolés, ensemencés et suivant les résultats de cet ensemencement et l'évolution de la maladie, considérés comme des coquelucheux ou libérés.

Si les enfants sont isolés du coquelucheux on pourra les laisser fréquenter définitivement les collectivités, si après 20 jours d'observation la toux n'est pas apparue.

4° Quand un cas de coqueluche sera signalé dans une collectivité d'enfants, il faudra examiner avec une attention particulière les enfants et les adultes n'ayant

pas eu la coqueluche. L'idéal serait alors de vacciner tous ces sujets. Ceux qui, vaccinés ou non, viendraient à présenter de la toux avec ou sans cortège symptomatique associé, ne seront plus admis dans la collectivité et seront isolés et ensemencés.

En ce qui concerne les crèches, pouponnières, etc., la prophylaxie doit être sévère, à cause de la gravité de la coqueluche à cet âge. La statistique hospitalière de Luttinger, de New-York, indique 34 % de coqueluche au dessous de 2 ans et 50 % de 2 à 5 ans. La mortalité atteint 50 % des cas au-dessous d'un an, 27 % de 1 à 2 ans, 18 % de 2 à 5 ans, 2 % de 5 à 15 ans. Les nourrissons qui toussent ou présentent des signes de rhino-bronchite seront isolés en boxe ou ne seront pas admis avant la disparition de ces symptômes.

Quand un nourrisson atteint de coqueluche a été reçu dans une crèche, il faudra vacciner les autres enfants et isoler et ensemencer tout nourrisson qui commence à tousser.

Pour l'application pratique de la méthode d'ensemencement de la toux, la station de prophylaxie anticoquelucheuse tiendrait à la disposition des médecins de la ville et des régions voisines, les milieux coulés en boîte métallique. Cette boîte serait expédiée sur demande télégraphique, téléphonique ou postale avec la notice suivante :

1° Au moment d'une secousse de toux, ouvrir la boîte et présenter la surface du milieu à 10 centimètres de la bouche de l'enfant.

Ne pas chercher à provoquer la toux ni à abaisser la langue.

2° Exposer la boîte pendant 1/4 de minute environ. Si la toux est brève et ne dure que quelques secondes, répéter l'ensemencement ;

3° Refermer immédiatement la boite ensemencée et la retourner à la station en indiquant le nom du médecin, son adresse, la date du début de la toux, l'âge du malade.

Comme au Danemark une enveloppe spéciale serait jointe à l'envoi pour le retour au laboratoire qui adresserait la réponse avec le résultat de l'ensemencement quatre jours plus tard.

Telles sont les règles simples et la plupart déjà connues de la prophylaxie de la coqueluche.

CONCLUSIONS

1° La seule méthode pratique de laboratoire capable de suppléer à la carence de la clinique pendant la période catarrale de la coqueluche est celle proposée par Mauritzen, Chievitz et Meyer (ensemencement des gouttelettes projetées par la toux). Pour la commodité du langage, nous dénommons cette méthode, *méthode d'ensemencement de la toux*.

2° La lecture des plaques ensemencées est facile à condition de suivre chaque jour, pendant trois jours, l'apparition des colonies. Le troisième jour seulement apparaissent les colonies de bacilles de Bordet-Gengou, dont l'aspect macroscopique est caractéristique : leur diamètre n'excède pas un millimètre ; elles sont arrondies, à bords réguliers, surélevés ; leur surface est luisante et donne un reflet métallique qui les rend comparables à des gouttelettes de mercure.

3° L'identification des colonies de bacilles Bordet-Gengou est facile. On ne peut sur les plaques les confondre avec les colonies de bacille de Pfeiffer qui apparaissent dès les 24 premières heures, qui sont plates et transparentes. L'identification est encore assurée par le repiquage de la colonie de Bordet-Gengou, soit sur le milieu de Bordet (Madsen) ; soit sur les trois milieux, milieu de Bordet, milieu chocolat, gélose ordinaire (Lawson) ; soit sur la gélose au sang où après quelques

passages on réussit sans difficulté la culture sur gélose ascite.

4° La méthode d'ensemencement de la toux fournit 80 pour 100 de résultats positifs dans la période catarrale, et le diagnostic de coqueluche peut être posé avant l'apparition des quintes. En pratiquant un ensemencement correct et sur trois plaques au moins, on doit obtenir pratiquement 100 pour 100 de résultats positifs.

5° Nous avons vérifié l'authenticité des souches de bacilles de Bordet-Gengou que nous avons isolées à Paris, par les méthodes biologiques suivantes :

a) Réaction de déviation du complément avec nos cultures comme antigène;

b) Agglutination par le sérum de convalescent :

c) Agglutination par divers sérums expérimentaux, en particulier avec les sérums américains A et B et deux immuns sérums préparés avec deux de nos souches. Ces différentes épreuves ont confirmé la spécifité des cultures que nous avions considérées comme appartenant au bacille de Bordet-Gengou.

6° Nous avons montré, les premiers, avec MM. Robert Debré et Prétet, par les méthodes d'agglutination, que jusqu'ici, le seul type B de bacille de la coqueluche avait été isolé par nous à Paris ;

7° L'application de la méthode d'ensemencement de la toux contribue à fixer sur des bases solides, la prophylaxie de la coqueluche. Elle permet l'isolement précoce grâce à un diagnostic précis dès le début de la toux. Elle permet de reconnaître avec certitude les coque-

luches frustes et anormales. Elle démontre la grande rareté des cultures positives après la quatrième semaine des quintes. L'expérience acquise et indiscutable de la non contagiosité de la coqueluche à partir de cette date, oblige à remanier la prophylaxie officielle de la coqueluche, et à modifier l'arrêté ministériel français du 5 février 1912, qui prescrit au coquelucheux une quarantaine de trente jours après la fin des quintes.

8° Pour contribuer à assurer une prophylaxie agissante et lutter réellement et pratiquement contre la mortalité par coqueluche, il faut généraliser la méthode de diagnostic bactériologique par l'ensemencement de la toux et pour ce faire, centraliser la préparation des milieux, l'envoi des plaques, le contrôle des résultats dans une station spécialisée de diagnostic et de prophylaxie de la coqueluche.

9° La vaccination et l'injection de sérum de convalescent de coqueluche sont actuellement les seules méthodes permettant la prophylaxie spécifique de la coqueluche. Nous avons préparé avec nos cultures, un vaccin chauffé, renfermant six cents millions de germes par centimètre cube. Il est injecté par voie sous cutanée ou intramusculaire à doses progressives de 0 cc. 25 à 1 cc.

Vu : le Président de la thèse,
L. BERNARD.

Vu : Le Doyen,
ROGER.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris
CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

Pour toute la bibliographie antérieure à 1918, on se reportera au travail de *Giese* (Annales de l'Institut Pasteur, novembre 1918, n° 11, p. 522-572).

Barbier et Renard. — Bulletin de la Société médicale des Hôpitaux de Paris, 1er décembre 1922, p. 1592.

Barenberg. — Valeur curative et prophylactique des vaccins de coqueluche (Arch. méd. Enfants, n° 7, juillet 1919, p. 382).

Bloom. — Vaccine therapy. most rationnel and effective method of treating Whooping cough (Archiv. pediatrica, 36, 1er janvier 1919, p. 50).

Bogert. — Vaccination préventive de la coqueluche (Progrès médical, 10 mai 1919, p. 264).

Chievitz et Meyer. — Recherches sur la coqueluche (Annales de l'Institut Pasteur, octobre 1916, n° 10, page 503-529).

— Laboratory test for Pertussis (Acta pediatrica, I, 99-1921).

Dansac. — Thèse Paris, 1924.

Debré (Robert). — Prévention de la coqueluche par l'injection de sérum de convalescent de coqueluche (Académie de médecine, 13 mars 1923).

Debre (Robert), Joannon et Benoist (C.). — Séroprophylaxie de la coqueluche (Journal médical Français, octobre et décembre 1923).

Debré (Robert) et Joannon. — La rougeole. Masson, 1926.

Debré (Robert), Marie (Julien) et Prétet (H.). — Les races de bacilles de Bordet-Gengou à Paris (Société de Biologie, mars 1928).

Deflou. — Thèse Paris, 1922.

Godlewski. — Prophylaxie de la coqueluche et durée de sa contagion (Hôpital, octobre 1921).

Hucnekens. — Nouvelle relation sur l'usage du vaccin anticoquelucheux contrôlé par l'épreuve de la fixation du complément (Arch. méd. Enf., juillet 1919, p 383).

John (L.) Jones. — Comitta of the Study of Whooping Cough (Boston School of public Health, 23 novembre 1925).

Krùmwiede, Mishulow et Oldenbush. — The existence of more than one type of bacillus Pertussis (Journ. Inf. disease, 32, 22, 1923).

Kristensen et Larsen (Ahrend). — Production d'anticorps après la vaccination contre la coqueluche (Société danoise de biologie, séance du 5 octobre 1926, t. XCV, p 1110).

Kristensen. — Recherches sérologiques sur le bacille de la coqueluche (Comptes rendus de la Société de Biologie, 3 janvier 1927, t. XCVI, p. 358).

Lawrence, Smith. — Treatment of Pertussis by rœntgen Ray. An analysis of 950 cases (Journal American medical Association, july 1925, vol. 85, p. 171-177).

Libert. — Revue critique de la bactériologie de la coqueluche. Le rôle du bacille de Bordet-Gengou (Annales de médecine, 1920, n° 3, p. 218).

Lawson et Muller. — The bacteriology of Whooping Cough (Journal Am. med Ass., t. 89, 4 juillet 1927).

Luzati. — Vaccination anticoquelucheuse (Il policlinico, fasc. 16, 19 avril 1920).

Madsen. — Le diagnostic bactériologique de la coqueluche (Compte rendu de la société de biologie, 1921, n° 8.)

— Rapport à la Société des Nations. Experts hygiénistes en matière de protection de l'enfance, 14 mai 1927.

Mallory, Horner et Henderson. — The relation of Bordet-Gengou bacillus to the lesion of Pertussis (Journ. of. med. Research, vol. 27, 1913).

Manicatide. — Société de biologie (Comptes rendus,1927, p. 1007).

Orgel. — A method for the early diagnosis of Pertussis (Journal Am. med. Ass., 20 octobre 1922).

Pécout. — Thèse Paris, 1922.

Pellé. — Thèse Paris, 1918.

Povitzky (Olga). — Improved méthods for the isolation and later cultivation of B. pertussis (Journal of Inf. disease, 32, 1923).

Nicolle et Blaizot. — Traitement de la coqueluche par un vaccin anticoquelucheux fluoruré (Archiv. Institt. Pasteur de Tunis, 1917).

Spolverini. — Vaccino-prophylaxie et vaccino-thérapie de la coqueluche (Il Policlinico,20 sept. 1920, fasc 38).

Weill. — Quelques considérations sur l'étiologie et la prophylaxie de la coqueluche (Journal de médecine de Lyon, janvier 1921).

9282 — Imp. de la Faculté de Méd. Jouve et Cie, 15, rue Racine, Paris — 5-26